

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Marburg
Direktor: Prof. Dr. G. A. Martini

Das Verhalten verschiedener Hydrolasen im Pankreas der Ratte bei eiweißfreier Kost und im Hunger

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
EBERHARD MÜLLER-HELMS
aus Berlin

Marburg/Lahn 1974

Druck: Georg Nolte, Marburg, Biegenstraße 5

Das Verhalten verschiedener Hydrolasen im Pankreas der Ratte bei eiweißfreier Kost und im Hunger

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

EBERHARD MÜLLER-HELMS
aus Berlin

Marburg/Lahn 1974

Das Verhalten verschiedener Hydrolasen im Pankreas der Ratte bei eiweißreicher Kost und im Hunger

INHAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
des gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg



vorgelegt von

EDWARD MÜLLER-HELM
aus Berlin

Angenommen vom Fachbereich

Humanmedizin der Universität Marburg am: 29.3.1974

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr.med. H.Oepen

Referent: Prof. Dr.med. H. Goebell

Correferent: Prof. Dr.med. Ch.Bode

**Das Verhalten verschiedener Hydrolasen
im Pankreas der Ratte
bei einweißfreier Kost und im Hunger**

Walter Franke

I n h a l t s v e r z e i c h n i s

1.	Einleitung und Problemstellung	1
2.	Material und Methodik	5
2.1.	Tiermaterial	5
2.2.	Futtermischungen	5
2.3.	I. Versuch: Verhalten des exokrinen Pankreas während eiweißfreier Kost	6
2.4.	II. Versuch: Verhalten des exokrinen Pankreas nach zunächst eiweißfreier und folgender Normalkost (Regeneration)	6
2.5.	III. Versuch: Verhalten des exokrinen Pankreas bei Hunger	7
2.6.	Aufarbeitung des Gewebes	7
2.6.1.	Herstellung des Homogenates	7
2.6.2.	Lipasebestimmung.....	8
2.6.3.	Trypsinbestimmung	9
2.6.4.	Chymotrypsinbestimmung	9
2.6.5.	Amylasebestimmung	10
2.6.6.	Gesamteiweißbestimmung	10
2.6.7.	DNS- und RNS-Bestimmung	11
2.7.	Statistische Berechnung	12
2.8.	Verwendete Substanzen.....	13
3.	Ergebnisse	13
3.1.	Verhalten des Körpergewichtes	13
3.1.1.	I. Versuch: Verhalten des Körpergewichtes bei absolutem Proteinmangel	13
3.1.2.	II. Versuch: Verhalten des Körpergewichtes in der Regenerationsphase	13
3.1.3.	III. Versuch: Verhalten des Körpergewichtes während Hunger	13
3.2.	Verhalten der exportablen Pankreasenzyme während absolutem Proteinmangel	14
3.2.1.	Lipase	14
3.2.2.	Trypsin	14
3.2.3.	Chymotrypsin	15
3.2.4.	Amylase	15
3.2.5.	Gesamteiweiß a) Im Homogenat gemessen	16
	b) Im Überstand gemessen	16

3.2.6.	RNS	16
3.2.7.	DNS	17
3.3.	Verhalten der exportablen Enzyme in der Regenerationsphase	17
3.3.1.	Lipase	17
3.3.2.	Trypsin	17
3.3.3.	Chymotrypsin	18
3.3.4.	Amylase	18
3.3.5.	Gesamteiweiß a) Im Homogenat gemessen	18
	b) Im Überstand gemessen	19
3.3.6.	RNS	19
3.3.7.	DNS	20
3.4.	Verhalten der exportablen Pankreasenzyme während Hunger	20
3.4.1.	Lipase	20
3.4.2.	Trypsin	20
3.4.3.	Chymotrypsin	21
3.4.4.	Amylase	21
3.4.5.	Gesamteiweiß a) Im Homogenat gemessen	21
	b) Im Überstand gemessen	21
3.4.6.	RNS	22
3.4.7.	DNS	22
4.	Diskussion	22
	Das Verhalten des Gewichts der exportablen Pankreasenzyme sowie der Konzentrationen des Gesamteiweißes, der RNS und DNS	22
	I. während eiweißfreier Kost	22
	II. bei eiweißfreier Diät mit anschließender Vollkost (Regeneration)	25
	III. Im Hunger	27
5.	Zusammenfassung	29
6.	Tabellen und Zeichnungen	31
	Literaturverzeichnis	45

Im Text vorkommende Abkürzungen

BAEE	=	Benzoyl-L-Arginin-Äthylester
BTEE	=	Benzoyl-Tyrosin-Äthylester
DNS	=	Desoxyribonucleinsäure
KCN	=	Kaliumcyanid
NaCl	=	Natriumchlorid
NaOH	=	Natriumhydroxyd
PCA	=	Perchlorsäure
RNS	=	Ribonucleinsäure
TCA	=	Trichloressigsäure
TRAP-Puffer	=	Triäthanolamin-Puffer
TRIS-Puffer	=	Tris (Hydroxymethyl)-amino-methan-Puffer

1. Einleitung und Problemstellung

Die Enzymproteine: Lipase, α -Amylase, Trypsinogen und Chymotrypsinogen werden im endoplasmatischen Retikulum der Pankreaszellen synthetisiert und über die Pankreasgänge und die Papilla duodeni major (Vateri) in den Zwölffingerdarm sezerniert.

Der Mechanismus der Synthese und Sekretion umfaßt drei komplexe Vorgänge:

1. Die Ingestion bestimmter Rohstoffe
2. Die Synthese der Rohstoffe zu spezifischen Produkten
3. Die Extrusion = die Ausstoßung der fertigen Proenzyme oder Enzyme aus den Azinuszellen (24).

Die Steuerung der Pankreasenzymsynthese erfolgt:

1. Hormonal, durch die NNR und die Hypophyse (17, 26, 37, 45-48, 51)
2. Durch Ernährungsfaktoren (5, 10, 20, 21, 34).

Während der Ingestion werden nicht die Proteine des Blutplasmas, sondern nur Aminosäuren in die Zellen des Pankreas aufgenommen (29). Zur optimalen Enzymproduktion sind dabei alle essentiellen Aminosäuren notwendig. Bei einem Ausfall einzelner Aminosäuren kommt es zu einer Herabsetzung der Proteinsynthese (22).

Die beiden Proteasen Chymotrypsin und Trypsin spalten Eiweiß zu Polypeptiden. Als Endopeptidasen greifen sie hierbei im Innern der großen Eiweißmoleküle an verschiedenen Stellen an. Die Lipase spaltet Fette in Glycerin und Fettsäure, bzw. Di- und Monoglyceride.

Die wesentliche Aufgabe der α -Amylase (Pankreasptyalin) besteht darin, Glykogen und Stärke bis zur Maltose abzubauen. Die elementare Bedeutung der Eiweißzufuhr für die Bauchspeicheldrüse wird u.a. von VEGHELYI et al (53) beschrieben. Sie beobachteten, daß keine morphologischen Veränderungen des Pankreasgewebes auftraten, wenn die zugeführte Nahrung hypokalorisch, aber proteinreich war;

Pankreasnekrosen waren die Folge vollkalorischer, jedoch proteinarmer Ernährung.

Bei absolutem Eiweißmangel dauert die Proteinproduktion noch eine kurze Zeit an. Wahrscheinlich werden dabei die fehlenden Aminosäuren aus einem Pool, der in der Matrix der Pankreaszelle lokalisiert ist, ersetzt (24). Werden Ratten ohne jede Proteinzufuhr aufgezogen, so sinkt der Aminosäurespiegel im Blut und damit auch in den Pankreaszellen immer mehr ab.

LAZARUS und VOLK (50) stellten bei Kaninchen, die eiweißfrei ernährt wurden, eine atrophische Veränderung der Azini fest sowie eine Vakuolisierung und gleichzeitige Reduzierung der Zymogengranula. Auch PARADISI und CAVAZUTTI (38) beobachteten durch Eiweißmangel bedingte Parenchymnekrosen, vakuoläre Degeneration des Cytoplasmas, Schwund der Nukleolen sowie Kernvakuolen, gleichzeitig stellten sie eine Syntheseverminderung der Enzyme fest. Nicht die Größe, sondern die Zahl der Pankreaszellen ist entscheidend für die Leistungsfähigkeit des Organs (25).

Wird eine eiweißfreie Ernährung über einen längeren Zeitraum fortgesetzt, kommt es nach etwa acht Tagen zu einer Erschöpfung des Aminosäurepools. Der Proteinaufbau in der Matrix und den Ribosomen der Pankreaszelle wird eingestellt (57). Nach circa zehn bis zwölf Tagen wird jedoch eine partielle Restitution des Pankreasgewebes und der Enzymsynthese beobachtet (57, 6, 22, 23). Dieses Phänomen der Adaptation fanden auch CHRISTOPHE, VANDERMEERS, KHAYAT et RATHÉ (15), die nach Verfütterung einer eiweißarmen Diät zehn Tage später eine gewisse Erholung der Lipase-, Chymotrypsinogen- und Trypsinogen-Synthese und eine verminderte Amylase-sekretion fanden.

HIRSCH (24) stellte die Hypothese auf, daß dies durch eine Umkonstruktion des Pankreas geschieht. Die Pankreaszellen waren kleiner geworden, so daß die Möglichkeit besteht, daß die zur Synthese benötigten

Aminosäuren durch den Abbau nicht exportabler Proteine in der Pankreaszelle gewonnen wurden. Es besteht aber auch die Möglichkeit, daß in anderen Geweben Proteine abgebaut wurden, und über das Blut die benötigten Aminosäuren der Pankreaszelle zugeführt wurden.

Über das Sekretionsverhalten der einzelnen Enzyme gibt es verschiedene Ansichten. BABKIN (3) ist der Meinung, daß das allgemeine Sekretionsverhalten der Pankreasenzyme parallel und proportional verläuft. Dies trifft für das normale Pankreas zu (18, 41).

Zahlreiche andere Autoren behaupten, daß die Pankreasenzyme nicht parallel, sondern in Anpassung an die Ernährung sezerniert werden (Enzymdissoziation) (5, 10, 20, 21, 34).

BAXTER (4) zeigt am Kaninchen, daß Amylase, Lipase und die proteolytischen Enzyme in relativ konstanten Proportionen sezerniert werden, jedoch paßt sich die synthetische Leistung des Pankreas der zu verwertenden Nahrung an.

VÉGEHLIYI et al. (53) stellten fest, daß während einer Eiweißmangelernährung zuerst die Sekretion von Trypsin abnahm, während Amylase am längsten unbeeinflusst blieb. Die gleichen Beobachtungen machten sie bei der Untersuchung des Pankreassekretes von an Pankreatitis erkrankten Menschen.

LAGERLÖF (30) stellte dagegen fest, daß bei Patienten mit akuter Pankreatitis die Amylaseaktivität im Pankreassaft abnorm niedrig war, während Trypsin innerhalb des Normbereiches blieb.

GUTH, KOMARO, SHAY und STYLE (21) fanden Ergebnisse, die ebenfalls von der Parallelitätstheorie abweichen. Bei Hunden sahen sie eine nahrungsabhängige Abweichung von Tag zu Tag. Beträchtliche Aktivitätsunterschiede der Enzyme wurden auch im menschlichen Pankreassekret, bei veränderter Nahrungslage, gemessen.

Das Pankreas hat also die Fähigkeit, sich der jeweiligen Ernährungssituation anzupassen.

Ratten, deren Ernährung so zusammengesetzt war, daß sie hauptsächlich aus Kohlehydraten bestand, zeigten eine wesentlich höhere Amylaseaktivität als während eiweißreicher Diät. Umgekehrt verhielten sich die proteolytischen Enzyme, während sich die Lipaseaktivität bei fettreicher Ernährung nicht änderte (5).

Wechselt man die Zusammensetzung einer bestimmten Futtermischung, so paßt sich das Pankreas ohne Verzögerung dieser neuen Situation in seinem Sekretionsverhalten an. Dieser Adaptationsprozeß dauerte circa fünf bis sieben Tage (32).

Problemstellung

Das Pankreas ist das Organ mit der höchsten Proteinsynthese. Proteinmangel, der als Ursache der in unterentwickelten Ländern vorkommenden Krankheit Kwashiorkor betrachtet wird, wirkt sich besonders auf die exokrine Leistung der Drüse aus (11, 32, 39, 57).

In der menschlichen Pathologie beobachtet man, daß bei leichter Pankreasschädigung die Enzyme nicht parallel sezerniert werden. Bei einigen wurde eine starke Verminderung, bei anderen eine noch in der Norm liegende Aktivität gemessen (13, 18, 42).

Dieses Ergebnis weicht von BABKINS Forderung, der parallelen Sekretion des exokrinen Pankreas, ab (3).

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, wie sich die exportablen Pankreasenzyme: Lipase, α -Amylase, Trypsin und Chymotrypsin, sowie die Konzentrationen des Gesamteiweißes, der RNS und DNS im Pankreasgewebe unter folgenden Bedingungen verhalten.

1. Verhalten während eiweißfreier Kost
2. Verhalten in der Regenerationsphase nach eiweißfreier Kost
3. Verhalten im Hungerzustand.

2. Material und Methodik

2.1. Tiermaterial und Versuchsreihen

Es wurden drei Versuchsreihen durchgeführt. Als Versuchstiere dienten männliche Wistar-Ratten (Durchschnittsgewicht 180-290 g). Die Tiere wurden während des Versuchs mit einer Spezialkost der Firma Altromin Lage/Lippe und mit Wasser nach Bedarf ernährt. Als Kontrolle dienten normal ernährte Tiere gleichen Alters und Gewichtes.

2.2. Zusammensetzung des Standardfutters

Casein	30 %
Reisstärke	56 %
Sojaöl, raff.	2 %
Cellulosepulver	4 %
Mineralmischung	6 %
Vitaminvormischung auf Reisstärke	2 %

Vitaminvormischung auf Reisstärke enthält in 20 g
(= 1000g Standardfutter):

Vitamin A	15000 IE
Vitamin D ₃	500 IE
Vitamin E	150 mg
Vitamin K ₃	10 mg
Vitamin B ₁ HCl	20 mg
Vitamin B ₂	20 mg
Vitamin B ₆ HCl	15 mg
Vitamin B ₁₂	30 mg
Pantothenensäure (Ca-Salz)	50 mg
Nikotinsäure	50 mg
Cholinchlorid	1000 mg
Folsäure	10 mg
Biotin	200 mg
Inosit	100 mg

p-Aminobenzoesäure	100 mg
Vitamin C	20 mg

Die eiweißfreie Diät enthielt gleiche Bestandteile, nur an Stelle der prozentualen Anteile des Proteins Reisstärke. Der Gesamtproteingehalt lag somit unter 0,1 %.

Das vom Hersteller pulverförmig gelieferte Futter wurde mit Wasser gebunden und den Tieren ad libitum angeboten.

2.3. Versuch I: Verhalten des exokrinen Pankreas während eiweißfreier Kost

72 männliche Ratten, gleichen Alters und gleicher Herkunft (Gewicht ca. 200g), wurden in 12 Gruppen zu je sechs Tieren eingeteilt. Während der mehrtägigen Akklimatisierung, die nach dem Transport wichtig war, wurden die Tiere mit Normalkost und Wasser ad libitum ernährt.

Anschließend wurde an 11 Gruppen das o.a. Spezialfutter und Wasser nach Bedarf 1,2,3,4,5,6,7,8,10,12 und 14 Tage verfüttert und so eine eiweißfreie Ernährung hergestellt. In diesen Zeiträumen wurden dann auch die Versuche durchgeführt. Eine Gruppe wurde als unbehandeltes Normalkollektiv zum Vergleich verwandt.

Nachdem die Tiere getötet waren, wurde ihnen das Pankreas sofort entnommen und biochemisch untersucht.

2.4. Versuch II: Verhalten des exokrinen Pankreas nach zunächst eiweißfreier Kost und folgender Normalkost (Regeneration)

54 männliche Ratten (Gewicht ca. 290g), gleichen Alters und gleicher Herkunft, wurden in neun Gruppen zu je sechs Tieren eingeteilt. Nach der durch den Transport notwendigen mehrtägigen Akklimatisierung wurde eine Gruppe, die unbehandelt war, zur Kontrolle ver-

wandt. Die restlichen acht Gruppen wurden 16 Tage mit o.a. Spezialfutter und Wasser ad libitum eiweißfrei ernährt. Nach diesem Zeitraum wurde eine der Gruppen untersucht. Die restlichen sieben Gruppen erhielten dann 1,2,3,4,5,6 und 7 Tage Normalkost und Wasser nach Bedarf. In diesen Zeiträumen wurden die Tiere der einzelnen Gruppen getötet, das Pankreas entnommen und biochemisch untersucht.

2.5. Versuch III: Verhalten des exokrinen Pankreas bei Hunger

Sechsenddreißig männliche Wistar-Ratten wurden in sechs Gruppen zu je sechs Tieren geteilt. Eine davon wurde als Kontrollgruppe benutzt, während die übrigen fünf 1,2,3,4 und 5 Tage hungerten. Wasser konnten die Ratten ad libitum aufnehmen. In diesen Zeiträumen wurden die Tiere der einzelnen Gruppen getötet, das Pankreas entnommen und biochemisch untersucht.

2.6. Aufarbeiten des Gewebes

2.6.1. Herstellung des Homogenates

Nach der Feststellung ihres Körpergewichtes wurden die Tiere mit Äther betäubt und danach decapitiert. Es folgte die sofortige Entnahme des Pankreas. Das Gewebe wurde in eisgekühlten TRAP-Puffer (30 mM, pH 7,2) gebracht und bis zur Homogenisierung in Eis aufbewahrt.

Die Homogenisierung (4x15 sec) erfolgte mit dem Ultra-Turrax (Fa. Janke und Kunkel, Staufen im Breisgau). Dem 2,5%igen Homogenat wurden 1ml zur Bestimmung von RNS und DNS und 1ml zur Proteinbestimmung entnommen. Der Rest des Homogenates wurde zur Herstellung eines Überstandes in der Kühlzentrifuge Sorvall RC 2 für 30 min bei ca. 28 000 xg zentrifugiert (4°C). In dem klaren Überstand wurden dann die Aktivitäten von Lipase, Amylase, Trypsin,

Chymotrypsin sowie der Proteingehalt bestimmt.

1 ml des Überstandes wurde zur Aktivierung von Trypsinogen und Chymotrypsinogen mit 0,95 ml TRIS- CaCl_2 - Puffer pH 7,8 verdünnt und nach Zugabe von 50 μl einer Enterokinaselösung 1 Stunde bei 25°C inkubiert.

2.6.2. Lipasebestimmung

Im pH-Stat-Verfahren wurden bei pH 9,0 mit einem Autotitrator "Radiometer Kopenhagen" die Äquivalente Fettsäure gemessen, die von der Lipase aus einer Olivenölemulsion durch Hydrolyse freigesetzt wurde (30). Tritriert wurde mit 0,1 n NaOH (CO_2 -frei) aus einer 0,25 ml-Bürette. Die Registrierung der Meßwerte erfolgte durch einen an das Gerät gekoppelten Schreiber. Zu jeder Testreihe wurde die Spontanspaltung (Titration ohne Enzym) bestimmt. Die Methode wurde von MARCHIS-MOUREN, SARDA und DESNUELLE zuerst beschrieben (35).

Ausführung:

15 ml Emulsion wurden unter dauerndem magnetischen Rühren auf pH 9,0 eingestellt und die Reaktion mit 0,05 ml der zu testenden Enzymlösung gestartet.

Emulsionslösung:

33 ml 10%ige Gummiarabicumlösung

4 ml Olivenöl (DAB 6 Merck)

Die Emulsion wurde mit dem Ultraturrax (Fa. Janke) unter Kühlung hergestellt (4 x 1 min.).

2.6.3. Trypsinbestimmung

Die Trypsinaktivität wurde nach der Methode von SCHWERT und TAKANAKA (49) gemessen. Dabei wurde die durch die Spaltung von N-Benzoyl-L-Argininaethylester (BAEE) in Äthanol und Benzoylarginin auftretende Absorptionsänderung registriert. Die Messung erfolgte in einem Spektrofotometer - Zeiss PMQ II und angeschlossenem Schrei-

ber. Gemessen wurde bei 25°C, in Quarzküvetten von 1 cm Schichtdicke, einer Wellenlänge von 254 nm und einer Spaltbreite von 0,3 mm. Zu der vorgewärmten Substratlösung wurde bis zu einem Endvolumen von 3,2 ml Testlösung gegeben.

Substratlösung:

0,001 M N-Benzoyl-L-Arginin-Äthylesterhydrochlorid

17,15 mg BAEE

2,2 ml 5%iger CaCl_2 -Lösung

ad 50 ml TRIS-Puffer 0,05 M, pH 8,0

Der Molare Extinktionskoeffizient beträgt: $1,15 \times$

$10^6 \frac{\text{cm}^2}{\text{Mol}}$

2.6.4. Chymotrypsinbestimmung

Chymotrypsin spaltet als Endopeptidase spezifisch Phenylalanyl- und Tyrosylverbindungen. Nach der Methode von HUMMEL (28) wurde die Chymotrypsinaktivität bestimmt. Hierbei wurde die Absorptionsänderung kinetisch registriert, die durch die Spaltung von N-Benzoyl-L-Tyrosinäthylester (BTEE) in Benzoltyrosin und Äthanol verursacht wird.

Die Messung erfolgte in einem Spektralfotometer - Zeiss PMQ II mit angeschlossenem Schreiber. Gemessen wurde bei 25°C, in Quarzküvetten von 1 cm Schichtdicke, einer Wellenlänge von 256 nm und einer Spaltbreite von 0,3 mm. Zu der vorgewärmten Substratlösung wurde bis zu einem Endvolumen von 3,2 ml Testlösung gegeben.

Substratlösung:

15,7 mg BTEE

12,5 ml Methanol

2,2 ml CaCl_2 -Lösung (5%ig)

ad 50 ml TRIS-Puffer 0,05 M, pH 7,0

Molarer Extinktionskoeffizient: $0,81 \times 10^6 \frac{\text{cm}^2}{\text{Mol}}$

2.6.5. Amylasebestimmung

Die α -Amylase des Pankreas spaltet Stärke hydrolytisch und baut sie bis zur Maltose ab. Die reduzierende Eigenschaft dieses Disaccharides wird mittels einer Farb-reaktion zur Bestimmung der Amylaseaktivität erfaßt. Diese Methode (Inkubationsmethode) mit 3,5-Dinitrosalizylsäure, die von BERNFELD (7) beschrieben wird, wurde in der Variation nach SCHÖN (43) angewandt.

Durchführung:

Mit einer 1,5%igen NaCl wurde die Enzymlösung 1:100 verdünnt. Zu 0,8 ml 1,5%iger NaCl-Lösung und 0,2 ml verdünnter Lösung wurden 2,0 ml Substratlösung gegeben und genau 15 min. bei 25°C inkubiert. Danach wurde 1 ml Farbreagens dazu gegeben, das Ganze 20 min. im siedenden Wasserbad gekocht, abgekühlt und mit 16 ml Aqua bid. aufgefüllt. Mit dem Photometer-Eppendorf erfolgte die Messung bei 546 nm gegen einen Leerwert in Glasküvetten mit 1 cm Schichtdicke. Dem Leerwert wurde an Stelle der 0,2 ml Enzymlösung 1,5%ige NaCl-Lösung zugesetzt. In einer vorher angelegten Eichkurve wurden die μ Mol gebildete Maltose abgelesen.

Herstellung der Reagenzien:

Substratlösung: Zulkowski-Stärke 1%ig in Phosphatpuffer nach SÖRENSEN pH 6,8 gelöst.

Farbreagens: 10 g 3,5-Dinitrosalizylsäure

300 g Seignettesalz

200 ml 2n NaOH

ad 1000 ml Aqua bidest.

2.6.6. Gesamteiweißbestimmung (55)

Mit der Biuretmethode wurde der Proteingehalt des Homogenates und des Überstandes gemessen. Hierbei wurde je 1 ml des Überstandes mit 50% Trichloressigsäure versetzt. Das ausgefällte Eiweiß wurde bei 4000 U/min. mit

der Tischzentrifuge (Fa. Christ) abzentrifugiert. Nachdem das Sediment mittels Magnetrührer durch 30 min. Rühren in 2,5%iger Biuretlösung gelöst war, wurde mit Aqua bid. 1:2 verdünnt. Mit dem Photometer Eppendorf wurde in Glasküvetten mit 2cm Schichtdicke bei 546 nm gegen einen Leerwert gemessen. Der Leerwert enthielt an Stelle des Homogenates bzw. Überstandes Aqua bid. Um Trübungsfehler auszuschalten, wurde die Lösung mit KCN entfärbt und zur Berechnung die Differenz der Extinktionen vor und nach dem Kaliumcyanid-(KCN) Zusatz benutzt (8).

Herstellen der Reagenzien:

Biuretreagenz: 0,2 m NaOH. 0,043 M $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$, 0,012 M $\text{CuSO}_4 \cdot 0,017$ M KJ in 1000 ml wässriger Lösung. Biuretfaktor nach BEISENHERZ = 8,5.

2.6.7. DNS- und RNS-Bestimmung

Nach modifizierten Methoden von SCHNEIDER (44) und BURTON (12) wurde der DNS- und RNS-Gehalt des Homogenates bestimmt.

Zunächst wurde mit heißer Perchlorsäure die Nucleinsäure aus dem Gewebseiweiß extrahiert. Bei der Messung störende säurelösliche Substanzen wurden mittels eiskalter TCA entfernt. Nachdem 1 ml des Homogenates mit 2,5 ml eiskalter 10%iger TCA versetzt und gemischt war, wurde in der Sorvall RC II Kühlzentrifuge für 5 min. bei 7000 U/min. zentrifugiert. Dem Sediment wurden 2,5 ml 0,5 n PCA zugefügt, und das Ganze in einem Wasserbad bei 70°C genau 15 min. inkubiert. Danach wurde mit der Tischzentrifuge (Fa. Christ) bei 4000 U/min. 10 min. zentrifugiert. Der Überstand wurde abgefüllt, während dem Sediment nochmals 2,5 ml 0,5%iger PCA beigefügt wurde, und durch das oben beschriebene Verfahren ein zweiter Überstand gewonnen wurde. Auf Grund dieser doppelten Extraktion werden DNS und RNS quantitativ erfaßt.

Kolorimetrische Bestimmung der DNS

0,5 ml Extrakt wurden mit 1 ml Diphenylaminreagens 16-20 Stunden inkubiert. Gegen einen Leerwert wurde mit dem Photometer - Zeiss bei einer Wellenlänge von 600 nm, in Spaltküvetten mit 1 cm Schichtdicke gemessen. Der Leerwert enthielt 0,5 n PCA an Stelle des Extraktes. Die in der DNS enthaltene Desoxyribose bildet mit Diphenylamin eine Farbreaktion, die dann photometrisch gemessen wird.

Herstellung der Reagenzien:

Stammlösung: 1,5 g Diphenylamin, gelöst in 100 ml Eisessig, dazu 1,5 ml konzentrierte H_2SO_4 .

Reagens: Zu 20 ml Stammlösung 0,1 ml Azetaldehyd-Lösung (16 mg/ml).

Kolorimetrische Bestimmung der RNS

Bei der RNS wurde die Farbreaktion photometrisch gemessen, die die Ribose des Nucleotids mit Orcin bildet. Da jedoch auch die DNS mit Orcin reagierte, konnte der RNS-Wert nur ermittelt werden, wenn ihm der entsprechende DNS-Wert abgezogen wurde.

0,2 ml Extrakt, 1,3 ml Aqua bid. und 1,5 ml Orcin-Reagens wurden 20 min. in siedendem Wasserbad erhitzt und abschließend abekühlt. Die Messung erfolgte gegen einen Leerwert bei 660 nm mit einem Zeiss-Photometer, in Küvetten von 1 cm Schichtdicke. Der Leerwert enthielt an Stelle von Extrakt 0,5 n PCA.

Herstellung der Reagenzien:

Orcin-Reagens: 10 g Orcin pro 1 ml Stammlösung

Stammlösung: 1 mg $FeCl_3$ pro 1 ml conc. HCL.

2.7. Statistische Berechnungen:

Die statistische Berechnung und Auswertung erfolgte nach Mittelwerten und Standardabweichungen. Die Signi-

fikanz von Differenzen zwischen Normalwerten und den Werten der einzelnen Versuchstage wurde nach dem t-Test von Student mit einem Tischkomputer der Firma Olivetti berechnet.

Programm: 165 A + B

2.8. Verwendete Substanzen

Von der Firma Serva, Entwicklungslabor Heidelberg, wurden BAEE und BTEE bezogen.

Von der Firma Koch-Light Laboratories, England, wurde die Enterokinase geliefert.

Falls nicht anders vermerkt, wurden die übrigen Substanzen von der Firma Merck, Darmstadt, bezogen.

3. Ergebnisse

3.1. Verhalten des Körpergewichtes

3.1.1. I. Versuch: Absoluter Proteinmangel (Abb. 1)

Nachdem die Normalkost abgesetzt und den Tieren eiweißfreie Nahrung angeboten wurde, verloren sie in den ersten vier Versuchstagen 20% ihres Körpergewichtes. Sie nahmen dann jedoch sehr schnell wieder zu, so daß nach sieben Tagen Diät das Ausgangsgewicht schon fast wieder erreicht war. In einer zweiten Phase verloren die Tiere bis zum 14. Tag eiweißfreier Diät erneut 20% ihres ursprünglichen Körpergewichtes.

3.1.2. II. Versuch: Regenerationsphase (Abb. 4)

Nach 16 Tagen proteinfreier Kost hatten die Ratten 28% ihres ursprünglichen Gewichtes verloren. Am ersten Tag, nach Verfütterung von eiweißhaltiger Normalkost, nahmen die Tiere zu. Dem leichten Gewichtsabfall bis zum dritten Tage folgte eine kontinuierliche Zunahme des Körper-

gewichtes der Tiere. Nach sieben Tagen Normalfutter hatten sie bereits den Gewichtsverlust um die Hälfte ausgeglichen.

3.1.3. III. Versuch: Hunger (Abb. 7)

Die Versuchstiere verloren bei Hunger, jedoch Wasser ad libitum, am ersten Versuchstag recht wenig an Gewicht. Nach weiteren zwei Tagen wogen sie ca 60 g weniger als zu Versuchsbeginn. Im weiteren Verlauf kam es zu einem konstanten Gewichtsverlust.

3.2. Verhalten der exportablen Pankreasenzyme

I.Versuch: Absoluter Proteinmangel (Tab.1-1a, Abb.2,3).

3.2.1. Lipase

Nach eintägiger proteinfreier Ernährung verminderte sich die Aktivität der Lipase leicht, um dann bis zum vierten Versuchstage auf den dreifachen Wert des Normalkollektives anzusteigen. Jedoch nahm diese Aktivität zwischen dem fünften und siebten Tag wieder ab, lag aber noch weit über der des Ausgangswertes. Ein Maximum erreichte die Lipaseaktivität am achten Tag nach Versuchsbeginn. Bis zum zehnten Tag fiel die Enzymaktivität aber wieder ab. Nach erneutem Anstieg vom zehnten bis zum zwölften Tag lagen die Meßwerte nach vierzehntägiger proteinfreier Ernährung noch um 75% über denen des Normalkollektives.

3.2.2. Trypsin

Im Vergleich zum Normalkollektiv nahm die Enzymaktivität des Trypsins vom ersten bis zum dritten Tag nach Beginn der eiweißfreien Diät um 65% ab. Vom dritten bis zum siebten Tag hielt sie sich bei geringfügigen

Veränderungen auf dem gleichen Wert.

Die am achten Tag gemessene Aktivität lag um 16% höher als die des Normalkollektives. Bis zum zehnten Tag wurden dann aber nur noch Werte gemessen, die um 34% unter denen der Vergleichstiere lagen. Diesem Verlust folgte eine steile Aktivitätsvermehrung bis zum zwölften Tag, der eine erneute Abnahme bis unter die Werte des Normalkollektives am vierzehnten Tag folgte.

3.2.3. Chymotrypsin

Im Vergleich zum Normalkollektiv waren nach zweitägiger Versuchsdauer noch 30% der ursprünglichen Chymotrypsinaktivität vorhanden. Der folgende Anstieg bis zum vierten Tag wurde bis zum siebten Tag eiweißfreier Ernährung wieder auf 15% reduziert. Zwischen zehntem und vierzehntem Tag kam es zu einer Aktivitätsvermehrung, die fast den Wert des Normalkollektives erreichte.

3.2.4. Amylase

Die Amylase reagierte auf die eiweißfreie Diät von allen untersuchten Enzymen am heftigsten. Schon nach einem Tag waren von der ursprünglich gemessenen Aktivität nur noch 18% vorhanden. Mit geringfügigen Schwankungen hielt sie sich bis zum dritten Tag auf diesem niedrigen Wert. Zwischen drittem und siebtem Tag folgten eine Aktivitätszu- und -abnahme, die ihre Maxima bei 53% und ihre Minima bei 24% der Werte des Normalkollektives hatten.

Nach acht Tagen eiweißfreier Ernährung stieg die Amylaseaktivität bis knapp unter den Ausgangswert, um bis zum zehnten Tag wieder auf 40% abzufallen. Diese abfallende Tendenz wurde bis zum vierzehnten Tag beibehalten.

3.2.5. Gesamteiweiß

a) Im Homogenat gemessen

Die Konzentration des im Homogenat gemessenen Proteins sank in den ersten beiden Versuchstagen unter die Werte des Normalkollektives ab. Dem Konzentrationsanstieg bis zum vierten Versuchstag folgte ein Verlust an Eiweiß auf 27% der ursprünglichen Werte. Zwischen sechstem und achtem Tag Diät nahm die Konzentration so stark zu, daß Werte gemessen wurden, die um 88% höher lagen als die der Vergleichstiere. Nach zehn Tagen war die Konzentration wieder abgefallen, stieg aber dann bis zum vierzehnten Tag kontinuierlich an.

b) Im Überstand gemessen

Auch die Konzentration des im Überstand gemessenen Proteins fiel in den ersten beiden Tagen der eiweißfreien Diät unter die Werte des Normalkollektives ab. Sie stieg aber bis zum vierten Tag auf über 33% des Ausgangswertes an. Es folgte ein erneuter Konzentrationsverlust bis zum sechsten Tag (auf 33% des ursprünglichen Proteingehaltes).

Nach einer Konzentrationszunahme am achten Tag fiel die Eiweißkonzentration bis zum vierzehnten Versuchstag kontinuierlich ab.

3.2.6. RNS

Nach einem Tag eiweißfreier Ernährung war die RNS-Konzentration auf über die Hälfte abgesunken. Mit geringfügigen Schwankungen hielt sie sich vom zweiten bis zum siebten Tag auf Werten zwischen 50% und 60% der Ausgangskonzentration. Dem steilen Anstieg am achten Tag folgte eine weitere Konzentrationsverringerung bis auf 35% der ursprünglichen Menge. Am vierzehnten Tag wurde ein Konzentrationsanstieg auf die Hälfte der Kontrollwerte gemessen.

3.2.7. DNS

Die Konzentration der DNS stieg bis zum dritten Tag bis auf 35% über den Ausgangswert an, um sich dann bis zum sechsten Tag wieder auf diesen einzupendeln.

Zwischen siebtem und achtem Tag kam es zu einem erneuten DNS-Anstieg, der sich bis zum zehnten Tag auf dem um 50% erhöhten Wert hielt.

Bis zum zwölften Versuchstag fiel sie aber bis auf 60% unter den Ausgangswert ab. Nach vierzehn Versuchstagen wurde eine ansteigende Tendenz gemessen.

3.3. II.Versuch: Verhalten der exportablen Pankreasenzyme in der Regenerationsphase (Tab.2-2a,Abb.5,6)

3.3.1. Lipase

Nach sechzehntägiger Ernährung mit einer eiweißfreien Diät wurde nur noch die Hälfte der ursprünglichen Lipaseaktivität gemessen. Die Regeneration des Enzyms trat nach Verfütterung von Normalkost sehr schnell ein. Schon nach einem Tag stieg die Lipaseaktivität über die Werte des Normalkollektives und erreichte am zweiten Tag ein Maximum, das den Ausgangswert um 90% überstieg.

Nach der absteigenden Tendenz der nächsten Tage, bis zu 70% der ursprünglichen Aktivität waren noch vorhanden, pendelte sich die Lipase bis zum siebten Tag wieder auf den Normalwert ein.

3.3.2. Trypsin

Die Trypsinaktivität war nach sechzehn Tagen bis auf 26% reduziert. Aber auch ihre Aktivität stieg schon nach einem Tag Normalfutter erheblich an. Nach zwei Tagen wurden bereits Werte gemessen, die wesentlich höher lagen als die des Normalkollektives.

Dieser Aktivitätssteigerung folgte eine Reduzierung

bis fast an den Ausgangswert, an welchen sich die gemessenen Größen im weiteren Versuchsverlauf anpaßten.

3.3.3. Chymotrypsin

Im Vergleich zum Normalkollektiv hatte sich die Aktivität des Chymotrypsins um 75% vermindert. Doch trat auch hier eine schnelle Regeneration auf, die schon am zweiten Tag weit über dem Vergleichswert lag (150% über dem Normalkollektiv). Nach diesem spontanen Anstieg kam es bis zum vierten Tag zu einem Aktivitätsabfall, der dann einen um 42% höheren Wert hatte als der der Vergleichstiere. Die abfallende Tendenz wurde, mit Ausnahme der geringen Aktivitätsvermehrung am fünften Tag, beibehalten. Nach sieben Tagen Normalfutter lag die Chymotrypsinkonzentration 20% tiefer als die des Normalkollektives.

3.3.4. Amylase

Die Aktivität der Amylase hatte sich während der eiweißfreien Ernährung um 90% verringert.

Eine starke Reaktivierung des Enzyms hatte zur Folge, daß nach zwei Tagen Normalkost eine Aktivität gemessen wurde, die 66% über dem Wert des Normalkollektives lag. Nach einem erneuten Aktivitätsverlust zwischen dem dritten und fünften Tag kam es zu einem Aktivitätsanstieg, der am sechsten Tag doppelt so hoch war wie der der Vergleichsgruppe. Am siebten Tag wurde jedoch wieder eine absteigende Tendenz registriert.

3.3.5. Gesamteiweiß

a) Im Homogenat gemessen

Die im Homogenat gemessene Proteinkonzentration hatte während der eiweißfreien Diät sehr stark abgenommen. Vom ursprünglichen Gehalt konnten noch 18% gemessen werden. Auch hier konnten wir eine sehr schnelle Er-

holung registrieren. Zwei Tage, nachdem die Tiere Normalfutter erhalten hatten, war die Proteinkonzentration schon höher als die der Vergleichsgruppe. Bis zum fünften Tag kam es wieder zu einem leichten Konzentrationsverlust bis unter den Ausgangswert, an den sich die Proteinkonzentration bis zum siebten Versuchstag allmählich anglich.

b) Im Überstand gemessen

Nach sechzehntägiger, eiweißfreier Diät lag die im Überstand gemessene Proteinkonzentration um 80% niedriger als die des Vergleichskollektives. Nach drei Tagen Normalkost war dieser Verlust jedoch durch eine Konzentrationserhöhung auf einen Wert gestiegen, der den der unbehandelten Tiere um 74% überstieg.

Bis zum sechsten Tag folgte eine kontinuierliche Konzentrationsverminderung bis unter den Wert des Normalkollektives, an den sich die Proteinkonzentration dann anglich.

3.3.6. RNS

Die RNS hatte während der sechzehntägigen Mangelkost um 20 % ihrer ursprünglichen Konzentration abgenommen. Nach eintägiger Normalkost sank ihr Gehalt auf 50% ab. Auf diesem Wert blieb die RNS auch noch am zweiten Tag. Am dritten Tag wurde eine RNS-Konzentration gemessen, die etwas über dem Normalwert lag. Der darauf folgende Tag ließ die RNS wieder auf 38% absteigen. Einem erneuten Anstieg auf 20% über die Werte des Vergleichskollektives folgte am siebten Tag ein nochmaliger Konzentrationsverlust, der 40% unter den Werten der Vergleichsgruppe lag.

3.3.7. DNS

Bei der DNS konnte nach sechzehn Tagen ein 22%-iger Konzentrationszuwachs gemessen werden. Nach eintägiger Normalfütterung erhöhte sich dieser Wert noch leicht, fiel dann aber bis zum dritten Tag auf 55% ab. Bis zum fünften Tag kam es aber wieder zu einer Konzentrationsvermehrung, die über den Kontrollwerten lag. Nach sieben Tagen lag die DNS-Konzentration 10% unter den Werten der unbehandelten Tiere.

3.4. III.Versuch: Verhalten der exportablen Pankreasenzyme während Hunger (Tab. 3, Abb. 8-9)

3.4.1. Lipase

Nachdem den Tieren das Futter entzogen wird, erhöht sich die Lipaseaktivität spontan. Schon nach einem Tag Hunger wird ein Wert gemessen, der 80% höher liegt als der der Vergleichstiere. Diese Aktivitätssteigerung fällt aber bis zum dritten Tag wieder allmählich ab, bleibt jedoch weiter über den Vergleichswerten. Nach vier Tagen wird ein steiler Aktivitätszuwachs registriert, der dem dreifachen Wert des Normalkollektives entspricht. Dieser sehr starken Aktivitätsvermehrung folgt am fünften Tag eine Reduzierung bis unter den Ausgangswert.

3.4.2. Trypsin

Nach einem Tag Hunger hat sich die Trypsinaktivität nur geringfügig verändert. Es sind noch 93% der ursprünglichen Aktivität gemessen worden. Auf diesem leicht erniedrigten Wert bleibt das Trypsin bis zum vierten Tag. Nach vier Tagen Hunger erreicht die Aktivität einen Wert, der 27% über dem des Normalkollektives liegt, sinkt aber dann wieder auf einen Wert ab,

der halb so groß ist wie der Ausgangswert.

3.4.3. Chymotrypsin

Die Aktivität des Chymotrypsins nimmt vom ersten bis zum vierten Tag kontinuierlich zu, so daß sie dann einen Wert erreicht hat, der 52% über dem des Normalkollektives liegt. Nach fünf Tagen Hunger ist eine deutlich abnehmende Tendenz registriert worden.

3.4.4. Amylase

Nach eintägigem Hunger ist die Amylaseaktivität bis auf 35% der Aktivität des Normalkollektives abgefallen, steigt dann aber kontinuierlich bis zum vierten Tag an. Hier wird ein Wert gemessen, der die Ausgangswerte um 28% übersteigt. Nach diesem Zeitpunkt fällt die Amylaseaktivität schnell ab.

3.4.5. Gesamteiweiß

a) Homogenat

Der Proteingehalt nimmt in den ersten Tagen des Hungers stark ab. Nach vier Tagen hat er sich um 81% verringert. Nach fünf Tagen kommt es zu einem leichten Anstieg bis auf 35% des ursprünglichen Gehaltes.

b) Überstand

Der Proteingehalt, der im Überstand gemessen wird, steigt nach zwei Tagen Hunger leicht an, fällt aber dann auf den Ausgangswert ab, um am vierten Tag wieder leicht erhöht zu sein. Nach fünf Tagen wird eine Konzentration gemessen, die etwas niedriger als die des Vergleichskollektives liegt.

3.4.6. RNS

Nach einem Konzentrationsverlust von 75% in den ersten drei Tagen steigt der Gehalt an RNS bis zum fünften Tag auf einen Wert, der 49% der Konzentration des Normalkollektivs enthält.

3.4.7. DNS

Die DNS-Konzentration zeigt in den ersten fünf Tagen eine ansteigende Tendenz. Hier wird dann eine Konzentration gemessen, die 63% über der des Normalkollektivs liegt. Lediglich am vierten Tag wird ein leichter Konzentrationsabfall gemessen.

4. Diskussion

I. Zum Verhalten des Pankreas bei mit eiweißfreier Kost ernährten Tieren

Bei den proteinfrei ernährten Ratten (Eiweißgehalt $< 0,1\%$) fiel nach vier Versuchstagen ein deutlicher Gewichtsverlust auf (von 160-200 g). Dies war auf eine Freßunlust der Tiere zurückzuführen, die als Folge der veränderten Nahrungszusammensetzung auftrat. Nach fünf Tagen kam es wieder zu einem Gewichtszuwachs, so daß die Versuchstiere dann mit einem Durchschnittsgewicht von ca 195 g fast so schwer waren wie die weiter mit Normalfutter ernährten des Vergleichskollektivs. Die passagere Zunahme hängt wohl mit einer Rhythmusänderung bei der Nahrungsaufnahme zusammen.

Während die Tiere des Vergleichskollektivs nachts fraßen, nahmen die Versuchsratten über den ganzen Tag verteilt Nahrung auf. Es ist daher möglich, daß es sich nur um eine scheinbare Gewichtszunahme handelte, die durch Fressen kurz vor dem morgentlichen Wiegen entstand.

Mit zunehmender Dauer der proteinfreien Diät kam es dann jedoch zu einer kontinuierlichen Gewichtsverminderung.

Außerdem wurde Desinteressiertheit sowie ein deutlicher Wachstumsrückstand gegenüber den Kontrolltieren beobachtet.

Bei den Versuchstieren, die eiweißfrei, aber vollkalorisch ernährt wurden, zeigte sich eine signifikante Erniedrigung des Enzymgehaltes im Pankreas. Am empfindlichsten reagierte die Amylase, deren Aktivität schon nach einem Tag Diät auf 20% gegenüber den beim Vergleichskollektiv gemessenen Werten abgefallen war. Die Aktivität der Proteasen war deutlich vermindert. Im Gegensatz dazu kam es zu einem signifikanten Anstieg der Lipase.

Nach der Zusammensetzung unserer Diät, die hauptsächlich aus Stärke bestand, wäre mit einem Anstieg der Amylase zu rechnen gewesen, da sie als Stärke spaltendes Ferment sich dem Nahrungsangebot hätte anpassen müssen.

Dieser Adaptationsmechanismus der exportablen Pankreasenzyme an die jeweilige Nahrungszusammensetzung wird unter anderem von BUCKO und KOPEC (10) beschrieben. Sie ernährten Ratten: 1. kohlehydratreich, 2. eiweißreich, 3. fettreich und stellten fest, daß die für die Ernährung spezifischen Enzyme anstiegen, während die restlichen Fermente vermindert ausgeschieden wurden. Gleiche Beobachtungen machten früher schon PAVLOV (40) und WEINLAND (55), GROSSMAN et al. (20), DESNUELLE et al. (16).

Die in unseren Versuchen gemachte Beobachtung des sofortigen Aktivitätsverlustes und hier besonders der Amylase, ist auf den sehr stark verminderten Proteingehalt der Diät zurückzuführen. Dadurch wurden dem Pankreas die zur Synthese notwendigen Aminosäuren entzogen. BUCKO und KOPEC (10) berichten, daß es für die Synthese der einzelnen Enzyme wichtig ist, daß in

quantitativer, aber auch in qualitativer Hinsicht der Gehalt an Eiweiß ausreichend sein muß. Sie geben 24 % der Nahrung an Protein als normal an. Verschiedene Autoren fanden, daß Eiweißmangel zu einer Verminderung aller exportablen Enzyme des Pankreas führt (19, 32). NADLER (36) und WARSHAWSKY et al. (54) begründen dies damit, daß es durch die hohe Umsatzgeschwindigkeit und den Aminosäuremangel bald zu einer Erschöpfung des Organs kommt.

Histologisch werden atrophische Veränderungen der Azini sowie Vakuolisierung bei gleichzeitiger Reduzierung der Zymogengranula beobachtet (50). Weiterhin kommt es durch den Eiweißmangel zu Parenchymnekrosen (38).

Auch der in unserem Versuch festgestellte RNS-Verlust bei gleichzeitigem DNS-Anstieg deutet auf eine Verkleinerung der Zellen hin (56).

Auffallend hingegen ist der im Vergleich zu den anderen Enzymen atypische, aber eindeutig signifikante Anstieg der Lipase. Hierbei handelt es sich jedoch nur um eine scheinbare Synthesesteigerung.

HOKIN (27) sowie ARNESJÖ et al. (1,2) berichten über eine festere Bindung der Lipase an die Zymogengranula als die übrigen Fermente. VANDERMEERS-PIRET, CAMUS und CHRISTOPHE (52) stellten fest, daß die Zymogengranula bei alkalischem pH (pH 8) nicht in der Lage waren, die Enzyme zu binden. Nach Behandlung in diesem Medium und einstündiger Zentrifugation fanden sie: 97% der Amylase, 95% des Chymotrypsins und 91% des Trypsins, jedoch nur 60% der Lipase im Überstand vor, was ebenfalls für eine ausgeprägtere Bindung der Lipase an die Zymogengranula spricht.

Sie folgerten daraus, daß die chemische Integrität der Granulawände durch den intrazellulären pH des Pankreas bewahrt wird. Diese Integrität wird durchbrochen, wenn die Granula an der Zelloberfläche mit dem alkalischen Pankreassaft zusammenkommt.

Es ist möglich, daß die in unserem Versuch festgestellte Vermehrung der Lipaseaktivität auf eine durch die

eiweißfreie Kost ausgelöste intrazelluläre pH-Änderung zurückgeht, die dazu geführt hat, daß das normalerweise fest an die Zymogengranula gebundene Ferment frei wird.

Eine partielle Restitution der Enzymsynthese oder Proteasen und der Amylase wurde am achten Versuchstag beobachtet. Zu diesem Phänomen der Adaptation (57, 6, 22, 23, 10) stellte HIRSCH (24) die Hypothese auf, daß dies durch eine Umkonstruktion des Pankreas geschieht. Da die Pankreaszellen kleiner geworden waren, besteht die Möglichkeit, daß die zur Synthese benötigten Aminosäuren durch den Abbau nicht exportabler Proteine in der Pankreaszelle gewonnen wurden.

Der Proteingehalt des Pankreas war bereits nach drei Tagen schon um 70% herabgesetzt. Diese Beobachtung machte auch CHRISTOPHE (14) bei Ratten, die mit eiweißbeschränkter Kost (Proteingehalt 7%) ernährt wurden. Zwischen viertem und fünftem Tag kommt es zu einer über dem Normalwert liegenden Proteinanreicherung. Eine Erklärung hierfür wäre die Hypothese von HIRSCH (24), daß, bedingt durch den Eiweißmangel, in anderen Geweben Proteine abgebaut, und die Aminosäuren dann über das Blut dem Pankreas zugeführt werden. Jedoch scheint es dann aber zu einer Erschöpfung der Reservepools zu kommen, denn es kam im weiteren Versuchsverlauf zu einem signifikanten Abfall der gemessenen Parameter.

II. Zum Verhalten des Pankreas bei eiweißfreier Kost mit anschließender Vollkost

Nach sechzehntägiger eiweißfreier Diät (Proteingehalt $< 0,1\%$) hatten die Tiere ca 37% ihres ursprünglichen Gewichtes verloren.

Hieraus kann man schließen, daß den Tieren eine vollkalorische, jedoch proteinfreie Kost nicht ausreicht. Bekannt ist, daß eine isolierte fett- oder kohlehydratarme Ernährung ohne Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes toleriert wird, da der Organismus in der Lage

ist, diese Stoffe selbst zu bilden. Eiweißmangel bei vollkalorischer Ernährung, wie bei an Kwashiorkor erkrankten Menschen auch beobachtet wurde, führt zu stärkeren Gesundheitsschäden, als hochwertige Eiweißernährung im Rahmen eines insgesamt niedrigen Kalorienangebotes.

Weiterhin kann dieser Gewichtsverlust Zeichen eines Eiweißkatabolismus sein, der zur Deckung der fehlenden Aminosäuren notwendig geworden war.

Jedoch sind diese Verluste reversibel. Nachdem die Tiere von der Diät auf normales Futter umgesetzt wurden, kam es wieder zu einer kontinuierlichen Gewichtszunahme (215g-250g innerhalb von vier Tagen).

Hieraus ist die zentrale Bedeutung des ausreichenden Eiweißangebotes in der Kostzusammenstellung ersichtlich.

Die Tiere zeigten nach 16tägiger eiweißfreier Kost die unter I bereits diskutierten Verminderungen der Enzymgehalte im Pankreas: Von den Ausgangswerten waren noch meßbar:

Lipase: 48%; Amylase: 15 %; Trypsin, Chymotrypsin: 28%. Bei erhöhter DNS waren der Protein- und RNS-Gehalt erniedrigt.

Bei dann anschließender Verfütterung von Normalkost fiel bei allen Fermenten eine sofort einsetzende Regeneration der Enzymsynthese auf. Schon nach zwei Tagen wurden Enzymgehalte gemessen, die signifikant über denen des Vergleichskollektives lagen.

Dies stimmt mit den Ergebnissen von CHRISTOPHE (14) überein, der bei Ratten, die eiweißarm, aber dann proteinreich ernährt wurden, feststellte, daß schon nach drei Tagen die reduzierten Werte normalisiert waren. Er ermittelte ebenfalls eine vermehrte Proteinsynthese. Dadurch konnte histologisch schon nach 24 Stunden eine vollständige Restitution der Zellgröße festgestellt werden. Nach siebentägiger Verfütterung von Normalkost hatten sich die exportablen Enzyme

sowie die Proteine auf die Ausgangswerte eingependelt, was für eine vollständige Regeneration der Bauchspeicheldrüse spricht.

III. Zum Verhalten des Pankreas im Hunger

Die Versuchstiere verloren bei absolutem Hunger und lediglich Wasser ad libitum am ersten Versuchstag recht wenig an Gewicht, während sie nach drei Tagen ca 60 g weniger wogen als zu Versuchsbeginn. Danach kam es zu allmählichem, aber konstantem Gewichtsverlust.

Die starke Abnahme zwischen erstem und drittem Tag ist Folge eines erhöhten Katabolismus, um den anfallenden Energiebedarf der Ratten zu decken. Wie früher schon bei den eiweißfrei ernährten beobachteten Tieren, fiel im Vergleich zu dem Normalkollektiv die Bewegungsarmut auf. Hieraus kann geschlossen werden, daß der allmähliche Gewichtsverlust wohl auf einen verminderten Grundumsatz zurückgeht.

BUCKO et al. (11) beobachteten bei Ratten, die hungerten, eine allgemeine Abnahme der Enzymsynthese des Pankreas. Wie wir, fanden sie eine nicht parallele Sekretion der Fermente, wie sie von BABKIN (3) für den Normalzustand postuliert wurde. Zunächst stellten sie nach einem und zwei Tagen geringgradige oder keine Veränderungen im Sekretionsverhalten des exokrinen Pankreas fest. Jedoch kam es danach zu einem schnellen Aktivitätsverlust, wobei nach sechstägiger Versuchsdauer die Amylase (96%), dann die Lipase (85,1%) und am wenigsten die Proteasen (57,9%) von ihren ursprünglich gemessenen Werten verloren hatten. Wir beobachteten schon nach einem Tag Hungern bei der Amylase einen Aktivitätsverlust von 60%. Danach kam es dann wieder zu einem etwas ansteigenden Enzymgehalt der Drüse, so daß nach vier Versuchstagen eine um 25% höhere Aktivität als beim Normalkollektiv gemessen wurde.

Auch die Lipaseaktivität nahm spontan zu und lag nach drei Tagen über dem dreifachen Wert, der bei den Vergleichstieren gemessen wurde. Bei den Proteasen hielt sich Trypsin mit geringgradigen Schwankungen im Normbereich, während es bei Chymotrypsin bis zum vierten Versuchstag zu einem signifikanten Anstieg der Enzymaktivität kam.

Vergleichen wir in unseren Versuchen das Verhalten des exokrinen Pankreas während eiweißfreier Diät mit dem während Hungerns, fällt bei der Lipase, bei Amylase und bei DNS und RNS eine deutliche Übereinstimmung auf.

Wieder kommt es zu einem sofortigen Amylaseverlust, nachdem keine Proteine zugeführt werden, der aber dann durch den Umbau des Pankreas und der Verwendung der nicht exportablen Proteine wieder ausgeglichen wird, so daß auch dieses Enzym bald wieder im Normbereich gemessen wird. Ein Zeichen für diesen Umbau sind die erniedrigt gemessene RNS- bei signifikanter DNS-Erhöhung (56) sowie die histologischen Beobachtungen von SYDNEY und LAZARUS (50) und PARADISI und CAVAZUTTI (38). Wie bei der proteinfreien Ernährung, kam es auch unter Hunger zu einer allgemeinen Aktivitätsverminderung, was als Folge einer Erschöpfung des Aminosäurepools zu sehen ist.

Unterschiede traten bei den Proteasen auf. Während wir bei proteinfreier Ernährung eine signifikante Verminderung fanden, kam es unter Hunger zu einer Aktivitätszunahme des Chymotrypsins, bei in der Norm bleibenden Trypsin. Dies könnte die Folge des erhöhten Eiweißkatabolismus während des Hungerns sein, welche eine Synthese des Enzyms noch möglich macht.

5. Zusammenfassung

Das Verhalten verschiedener Hydrolasen im Pankreas der Ratte bei eiweißfreier Kost und im Hunger.

1. In der ersten Versuchsreihe wurden zwölf Gruppen zu je sechs männlichen Wistar-Ratten zusammengestellt. Davon erhielten elf 1,2,3,4,5,6,7,8,10,12 und 14 Tage eine eiweißfreie Kost (Proteingehalt $< 0,1\%$). Eine weitere Gruppe bekam Normalfutter und wurde dann als Normalkollektiv zum Vergleich verwendet. Alle Tiere erhielten Wasser ad libitum. Das Pankreasgewebe wurde auf seinen Gehalt an Amylase, Trypsin, Chymotrypsin, Lipase, Protein, DNS und RNS untersucht.

Die eiweißfreie, ansonsten aber vollkalorische Diät führte zunächst zu einem deutlichen Aktivitätsverlust der Amylase sowie der Proteasen. Ebenso sank der Proteingehalt des Pankreas rasch ab. Jedoch wurde im Laufe des Versuches eine partielle Restitution des Enzym- und des Eiweißgehaltes festgestellt. Die hierzu benötigten Aminosäuren stammen möglicherweise aus dem Abbau nicht exportabler Proteine der sich im Ganzen verkleinernden Pankreaszelle (Adaptation). Weiterhin besteht die Möglichkeit, daß der Bauchspeicheldrüse über den Blutweg Aminosäuren aus anderen Geweben zugeführt wurden. Bei der Lipase kam es gleich nach Diätbeginn zu einem signifikanten Anstieg der gemessenen Enzymaktivität im Gewebe.

2. In einer weiteren Versuchsreihe wurden neun Gruppen von je sechs Wistar-Ratten gebildet. Davon wurde eine als Vergleichskollektiv bei Normalkost gehalten. Die restlichen erhielten eiweißfreie Diät und Wasser ad libitum über sechzehn Tage. Danach wurde eine Gruppe entnommen, während sieben Gruppen über 1,2,3,4,5,6 und 7 Tage wieder mit Normalfutter ernährt wurden.

Sechzehntägige proteinfreie aber ansonsten vollkalorische Diät führte zu signifikanter Verminderung aller

exportablen Pankreasenzyme sowie des Gesamteiweißes. Nach Verfütterung von Normalkost kam es zu einem sofortigen Wiederbeginn der Enzymsynthese. Die gemessenen Aktivitäten lagen schon einen Tag, nachdem die Diät durch Vollkost ersetzt war, über den Werten des Vergleichskollektives. Jedoch glichen sich diese überschießenden Reaktionen bis zum siebten Tag aus.

Auch das Gesamteiweiß pendelte sich wieder auf die beim Normalkollektiv gemessenen Konzentrationen ein. Diese schnelle Wiederaufnahme der Produktion der exportablen Enzyme wie der Proteine zeigte die gute Regenerationsfähigkeit der Bauchspeicheldrüse.

3. In einem dritten Versuch wurden neben dem aus sechs Ratten bestehenden Vergleichskollektiv fünf Gruppen mit der gleichen Tierzahl zusammengestellt. Diesen wurde das Futter entzogen und lediglich Wasser ad libitum angeboten.

Bei Hunger fanden wir bei Amylase, Lipase, RNS und DNS deutliche Übereinstimmungen zu dem Verhalten unter proteinfreier Diät. Die DNS-Erhöhung bei RNS-Erniedrigung spricht für einen Umbau der Pankreaszellen (Adaptation).

Anders hingegen verhielten sich die Proteasen. Hier kam es zu einer Aktivitätszunahme des Chymotrypsins im Gewebe, während bei Trypsin Normalwerte gemessen wurden. Vergleicht man diese Werte mit den unter proteinfreier Kost gemessenen, so kann man die Reduktion bei eiweißfreier Kost als Folge des auf den Eiweißkatabolismus inhibitorisch wirkenden Überangebotes von Kohlehydraten betrachten.

Im Hungerzustand führt dagegen ein ungehemmter Katabolismus in der Frühphase noch zu einem ausreichenden Angebot von Aminosäuren an das Pankreas.

	KONTROLLE			1. TAG			2. TAG			3. TAG			4. TAG			5. TAG		
	E/gFr	Δ/μgDNS	E/gFr	E/μgDNS	± S	t	E/gFr	E/μgDNS	± S	t	E/gFr	E/μgDNS	± S	t	E/gFr	E/μgDNS	± S	t
LIPASE	± 750	0,340	± 812	0,293	± 333	1,30	± 937	0,324	± 557,6	1,40	± 1375	0,474	± 262,2	5,15	± 2520	1,084	± 1484,1	3,14
	± 506,2																± 1500	0,010
																	± 440,1	4,34
TRYPsin	± 84,3	0,038	± 64,01	0,023	± 16,4	2,45	± 71,3	0,025	± 48,2	0,59	± 42,8	0,014	± 15,7	5,14	± 47,3	0,02	± 36,1	0,016
	± 11,8																± 6,8	6,60
CHYMO-TRYPsin	± 251	0,12	± 193,4	0,069	± 40,7	1,39	± 106,6	0,036	± 32,6	1,58	± 133	0,045	± 45,6	2,78	± 166,3	0,071	± 86,4	0,04
	± 85,4																± 26,2	4,10
AMYLASE	± 29678	13,4	± 6708,8	2,42	± 5115	5,88	± 6826,4	2,36	± 1746	6,72	± 7481	2,56	± 16461,3	7,08	± 6771,0	3,11	± 1875	6,72
	± 8301																	
DNS	± 2205		± 2771	2,01	± 802		± 2887	1,22	± 650,3		± 2895	1,16	± 2323	0,63	± 2173	0,25	± 500,6	
RNS	± 10269	4,30	± 5454	1,96	± 1163	1,02	± 7367	2,55	± 3443	0,59	± 6142	2,12	± 1344	0,87	± 5589	2,39	± 4824	2,21
	± 1039																± 1003	1,16
PROTEIN HOMOGENAT	± 161	0,073	± 191	0,069	± 9,4	0,70	± 194,8	0,045	± 149	0,53	± 134,7	0,046	± 32,8	1,27	± 140	0,06	± 117,8	0,054
	± 38,2																± 23,9	2,34
PROTEIN UBERSTAND	± 67	0,07	± 100	0,028	± 9,8	1,67	± 54,8	0,019	± 19,8	1,25	± 84,5	0,029	± 29,6	1,16	± 93,9	0,04	± 81,6	0,037
	± 19,5																± 7,2	1,64

Tab.: 1 Enzym-, Protein-, DNS- und RNS-Gehalt des Rattenpankreas bei eiweißfreier Ernährung
 Maßeinheiten: DNS, RNS; μg/gFr; E/μgDNS = mg/μgDNS Protein: mg/gFr; E/μgDNS = mg/μgDNS

	6. TAG		7. TAG		8. TAG		10. TAG		12. TAG		14. TAG	
	E/gFr	E/mgDNS	E/gFr	E/mgDNS	E/gFr	E/mgDNS	E/gFr	E/mgDNS	E/gFr	E/mgDNS	E/gFr	E/mgDNS
	± S	t	± S	t	± S	t	± S	t	± S	t	± S	t
LIPASE	1270 ± 488,9	0,534 3,01	1958 ± 824,1	0,593 3,88	1395 ± 463,7	1,385 3,70	1000 ± 325	0,562 2,41	1145 ± 428,7	0,878 2,71	862 ± 323	0,595 1,62
TRYPsin	36,1 ± 21,9	0,015 4,73	32,8 ± 9,8	0,009 8,18	45,2 ± 15,0	0,44 4,99	40,5 ± 8,5	0,022 7,31	39,3 ± 13,6	0,039 5,75	42,3 ± 20	0,029 4,42
CHYMO- TRYPsin	106,6 ± 44,3	0,044 3,42	62,4 ± 30,1	0,018 4,71	74,8 ± 28,2	0,074 4,42	77,4 ± 23,7	0,043 4,41	102,7 ± 32,3	0,078 3,68	103,4 ± 38,7	0,072 3,02
AMYLASE	15739,8 ± 3737	6,62 3,82	10145,4 ± 3467	3,074 5,42	12809,4 ± 2027	42,8 4,93	9695,2 ± 4121	5,42 5,39	6323,8 ± 3356	4,84 7,02	5172,6 ± 706,9	3,57 7,34
DNS	2377 ± 790,8	0,35	3300 ± 620	1,30	1007 ± 228,8	2,88	1779 ± 300,4	0,15	1305 ± 380,9	2,53	1447 ± 400,0	2,26
PNS	6545 ± 2087	2,75 0,78	6895 ± 2245	2,08 0,71	4083 ± 1382	4,05 1,31	4311 ± 1477	2,42 1,26	2035 ± 762	1,56 1,76	3167 ± 963	2,2 1,51
PROTEIN HOMOGEINAT	47,6 ± 29,4	0,02 5,5	138,9 ± 63,1	0,042 0,73	138,2 ± 39,0	0,037 1,23	50,1 ± 25,4	0,028 5,91	40,5 ± 9,5	0,031 7,21	67,9 ± 24,6	0,04 5,15
PROTEIN ÜBERSTAND	26,2 ± 18,4	0,01 3,77	62,4 ± 20,5	0,018 0,45	28,0 ± 21,7	0,027 2,94	28,8 ± 11,5	0,016 3,94	20,3 ± 9,6	0,015 5,89	20,4 ± 4,0	0,014 5,80

Tab.: 1a Enzym-, Protein-, DNS- und PNS-Gehalt des Pankreas bei eiweißfreier Ernährung
 Messeinheiten: DNS, PNS: $\mu\text{g/gFr}$; E/ μgDNS = mg/ μgDNS Protein: mg/gFr; E/ μgDNS = mg/ μgDNS

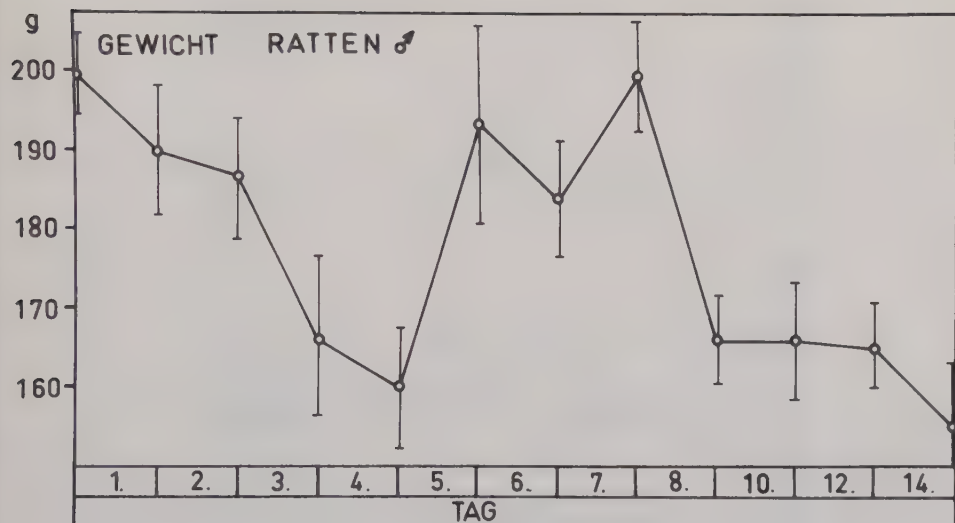


Abb.1: Das Verhalten des Körpergewichtes der Versuchstiere bei eiweißfreier Ernährung

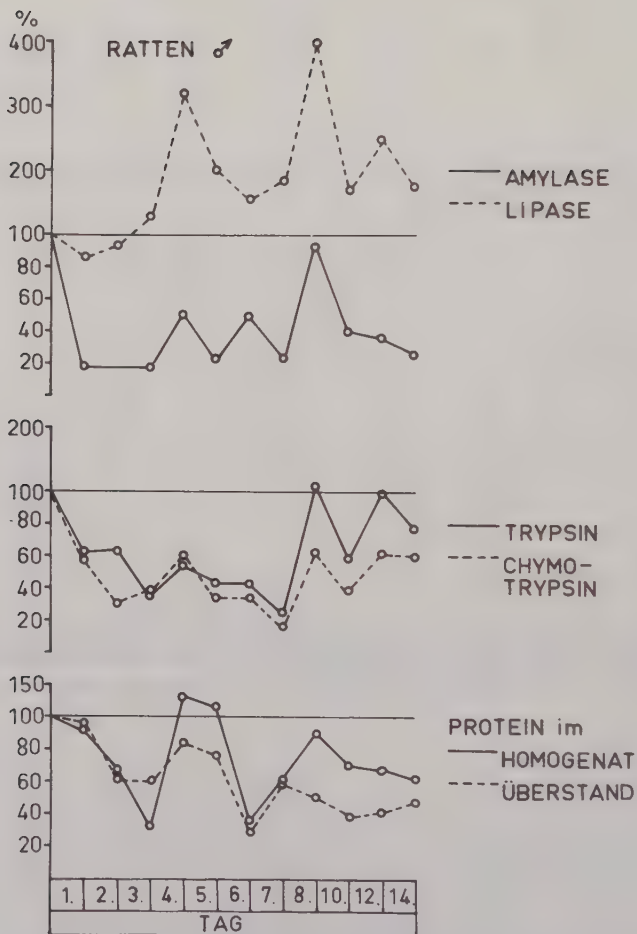


Abb.2: Enzym- und Proteingehalt des Rattenpankreas bei eiweißfreier Ernährung

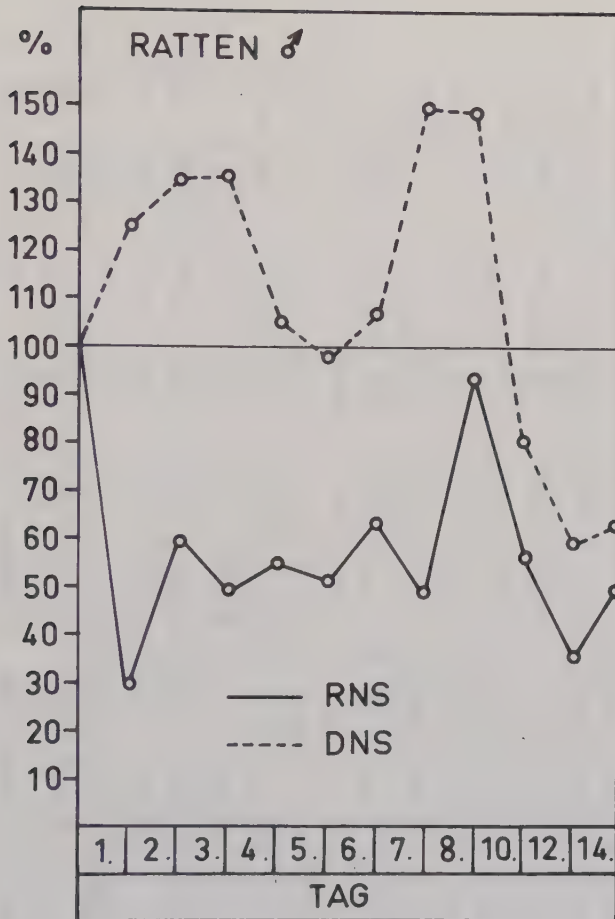


Abb.3: DNS- und RNS-Konzentrationen der Rattenpankreas bei eiweißfreier Ernährung

	KONTROLLE				16.TAG				1.TAG				2.TAG				3.TAG			
	E/gFr	E/ μ gDNS	E/gFr	E/ μ gDNS	E/gFr	E/ μ gDNS	E/gFr	E/ μ gDNS	E/gFr	E/ μ gDNS	E/gFr	E/ μ gDNS	E/gFr	E/ μ gDNS	E/gFr	E/ μ gDNS	E/gFr	E/ μ gDNS	E/gFr	E/ μ gDNS
	$\pm$ S	t	$\pm$ S	t	$\pm$ S	t	$\pm$ S	t	$\pm$ S	t	$\pm$ S	t	$\pm$ S	t	$\pm$ S	t	$\pm$ S	t	$\pm$ S	t
LIPASE	2625 $\pm$ 1140	4,10	1650 $\pm$ 881	1,95	3541 $\pm$ 1947	4,83	2750 $\pm$ 1131	7,79	3333 $\pm$ 1322	6,46	3333 $\pm$ 1322	0,98	2750 $\pm$ 1131	0,99	3333 $\pm$ 1322	0,18	3333 $\pm$ 1322	0,98	3333 $\pm$ 1322	0,98
TRYPsin	222,6 $\pm$ 100,5	0,38	72,36 $\pm$ 25,7	0,10	439,7 $\pm$ 162,8	0,6	456,4 $\pm$ 136,4	1,297	317,26 $\pm$ 35,0	1,03	317,26 $\pm$ 35,0	2,16	456,4 $\pm$ 136,4	1,297	317,26 $\pm$ 35,0	2,16	317,26 $\pm$ 35,0	1,03	317,26 $\pm$ 35,0	2,16
CHYMO- TRYPsin	319,4 $\pm$ 102,7	0,655	126,4 $\pm$ 63,0	0,171	805,8 $\pm$ 63,0	1,11	584,6 $\pm$ 139,5	2,66	301,9 $\pm$ 70,0	1,28	301,9 $\pm$ 70,0	0,27	584,6 $\pm$ 139,5	2,66	301,9 $\pm$ 70,0	0,27	301,9 $\pm$ 70,0	1,28	301,9 $\pm$ 70,0	0,27
AMYLASE	8666 $\pm$ 136	14,6	6910 $\pm$ 1757	0,96	1304 $\pm$ 986	8,25	6611 $\pm$ 2882	1,59	7425 $\pm$ 2397	24,2	7425 $\pm$ 2397	1,11	6611 $\pm$ 2882	1,59	7425 $\pm$ 2397	24,2	7425 $\pm$ 2397	24,2	7425 $\pm$ 2397	1,11
DNS	1162 $\pm$ 720		1428 $\pm$ 840	2,26	1462 $\pm$ 612	2,85	705 $\pm$ 127	10,84	614 $\pm$ 190	11,28	614 $\pm$ 190		705 $\pm$ 127	10,84	614 $\pm$ 190	11,28	614 $\pm$ 190	11,28	614 $\pm$ 190	
RNS	2627 $\pm$ 1281	2,26	2949 $\pm$ 966	1,80	1729 $\pm$ 201	1,18	843 $\pm$ 229	5,19	1474 $\pm$ 261	2,39	1474 $\pm$ 261	3,30	843 $\pm$ 229	5,19	1474 $\pm$ 261	2,39	1474 $\pm$ 261	2,39	1474 $\pm$ 261	3,30
PROTEIN HOMOGENAT	214,45 $\pm$ 37,8	0,368	46,78 $\pm$ 23,6	0,065	137,2 $\pm$ 22,4	0,18	152,3 $\pm$ 54,1	0,43	195,4 $\pm$ 31,0	0,53	195,4 $\pm$ 31,0	0,91	152,3 $\pm$ 54,1	0,43	195,4 $\pm$ 31,0	0,53	195,4 $\pm$ 31,0	0,53	195,4 $\pm$ 31,0	0,91
PROTEIN UBERSTAND	116,9 $\pm$ 55,8	0,2	28,88 $\pm$ 16,0	0,039	81,78 $\pm$ 18,1	0,14	105,91 $\pm$ 26,8	0,29	104,65 $\pm$ 7,8	0,35	104,65 $\pm$ 7,8	0,53	105,91 $\pm$ 26,8	0,29	104,65 $\pm$ 7,8	0,35	104,65 $\pm$ 7,8	0,35	104,65 $\pm$ 7,8	0,53

Tab.: 2 Enzym-, Protein-, DNS- und RNS-Gehalt des Rattenpankreas in der Regenerationsphase
 Meßeinheiten: DNS, RNS: μ g/gFr; E/ μ gDNS = mg/ μ gDNS Protein: mg/gFr; E/ μ gDNS = mg/ μ gDNS

	4. TAG			5. TAG			6. TAG			7. TAG		
	E/μgFr	E/μgDNS	t	E/μgFr	E/μgDNS	t	E/μgFr	E/μgDNS	t	E/μgFr	E/μgDNS	t
LIPASE	± 1687	± 3,08		± 2650	± 3,40		± 3375	± 5,61		± 2575	± 4,24	
	± 522	± 1,82		± 1242	± 1,08		± 1469	± 0,03		± 890	± 0,08	
TRYPsin	± 229,81	± 0,41		± 263,17	± 0,40		± 233,8	± 0,388		± 225	± 0,400	
	± 29,5	± 0,16		± 61,9	± 0,83		± 55,8	± 0,23		± 56,23	± 0,83	
CHYMO-	± 509,5	± 0,93		± 718,08	± 1,07		± 335,28	± 0,54		± 328,1	± 0,52	
TRYPsin	± 168,3	± 2,14		± 402,5	± 2,28		± 77,2	± 0,24		± 76,64	± 0,28	
AMYLASE	± 11355	± 18,9		± 13222	± 1,97		± 17325	± 28,8		± 9680	± 27,4	
	± 1367	± 3,30		± 3506	± 3,43		± 9416	± 7,36		± 2402	± 6,4	
DNS	± 1095	± 2,56		± 1338	± 2,81		± 1203	± 1,59		± 1042	± 4,68	
	± 620			± 720,6			± 645,6			± 400,7		
PNS	± 1067	± 0,85		± 1738	± 2,82		± 3386	± 3,1		± 3267	± 1,30	
	± 385,1	± 4,24		± 544,7	± 2,22		± 1270	± 1,22		± 130,5	± 1,89	
PROTEIN	± 165,5	± 0,35		± 114,5	± 0,171		± 160,3	± 0,266		± 1895	± 0,364	
HOMOGENAT	± 53,2	± 2,72		± 42,7	± 4,26		± 39,7	± 2,40		± 34,8	± 1,17	
PROTEIN	± 98,23	± 0,18		± 106,16	± 0,1		± 124,83	± 0,23		± 129,75	± 0,24	
ÜBERSTAND	± 14,9	± 0,78		± 32,7	± 0,40		± 26,5	± 0,31		± 33,3	± 0,48	

Tab.: 2a Enzym-, Protein-, DNS- und PNS-Gehalt des Rattenpankreas in der Regenerationsphase
 Messeinheiten: DNS, PNS: μg/gFr; E/μgDNS = mg/μgDNS Protein: mg/gFr; E/μgDNS = mg/μgDNS

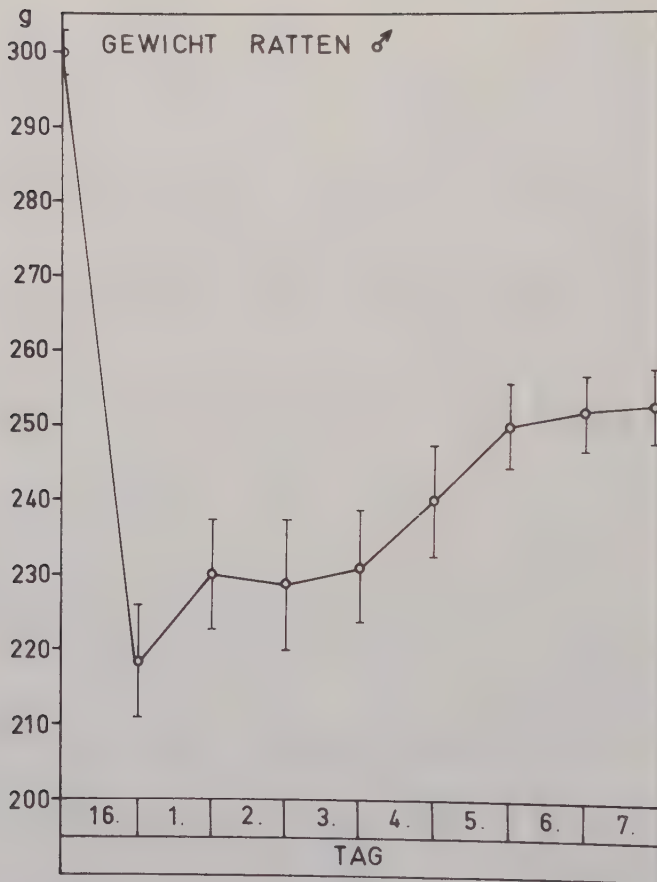


Abb.4: Das Verhalten des Körpergewichtes der Versuchstiere in der Regenerationsphase

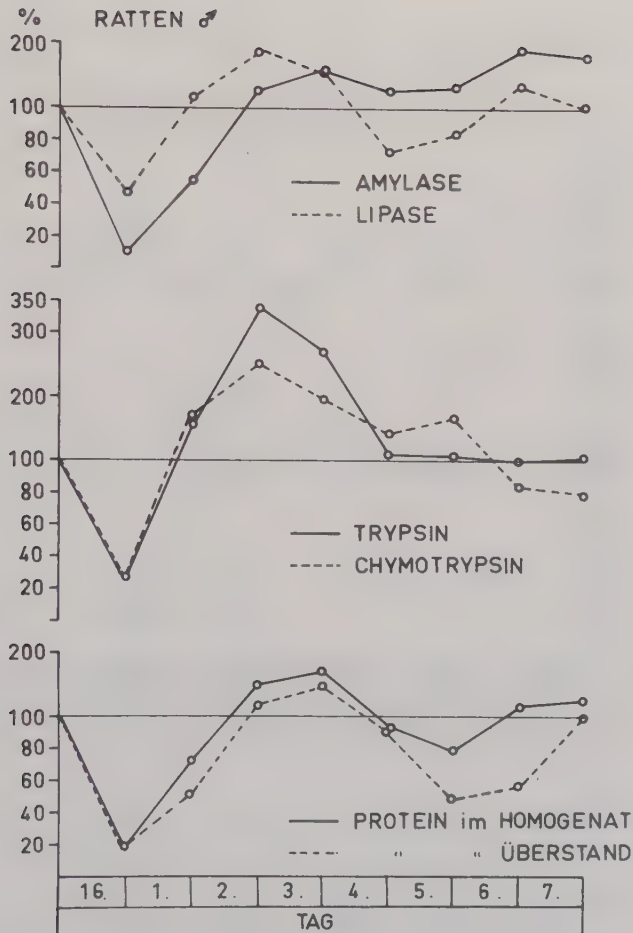


Abb.5: Enzym- und Proteingehalt des Rattenpankreas in der Regenerationsphase

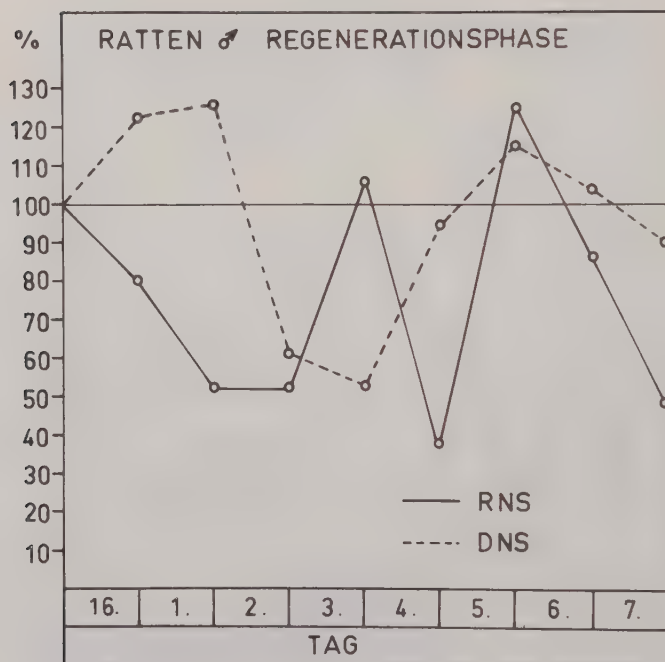


Abb.6: DNS- und RNS-Konzentrationen des Rattenpankreas in der Regenerationsphase

	KONTROLLE			1. Tag			2. Tag			3. Tag			4. Tag			5. Tag		
	E/gFr ± S	E/μgDNS t	E/gFr ± S	E/μgDNS t	E/gFr ± S	E/μgDNS t	E/gFr ± S	E/μgDNS t	E/gFr ± S	E/μgDNS t	E/gFr ± S	E/μgDNS t	E/gFr ± S	E/μgDNS t	E/gFr ± S	E/μgDNS t	E/gFr ± S	E/μgDNS t
LIPASE	2979 ±1458	2,18	6513 ±2013	3,92 5,8	6416 ±1437	3,64 7,6	5062 ±2190	3,04 3,5	8145 ±2276	7,69 6,5	4100 ±1728	1,84 2,7						
TRYPsin	238,5 ± 61,0	0,176	272,5 ± 86,0	0,164 11,4	297,5 ± 97,7	0,168 8,4	313,0 ± 137,8	0,167 7,6	360,0 ± 49,5	0,224 5,5	176,5 ± 33,9	0,089 8,6						
CHYMO- TRYPsin	289,0 ± 97,6	0,218	469,3 ± 96,3	0,232 9,7	646,5 ± 166,7	0,378 6,1	767,1 ± 186,9	0,414 5,2	944,1 ± 198,0	0,590 3,1	717,8 ± 167,2	0,322 5,9						
AMYLASE	3776,0 ± 325,0	2,76	1745,6 ± 97,3	1,06 0,65	3703,3 ± 420,8	2,10 8,01	4954,0 ± 671,3	2,66 8,99	5690,0 ± 722,0	3,52 7,94	2975,0 ± 904,6	1,33 2,11						
INS	1366 ± 650		1665 ± 740	1,44	1771 ± 430	2,22	1855 ± 300,4	1,84	1603 ± 480	2,2	2238 ± 760	1,64						
RNS	3664 ±1697	2,68	2685 ± 478,6	1,62 4,4	1786 ± 980,3	1,01 0,03	1161 ± 517,3	0,62 2,42	2071 ± 860,9	1,28 0,61	2913 ± 560,0	1,31 0,57						
PROTEIN HOMOGENAT	509,1 ± 246,6	0,374	219,4 ± 107,2	0,132 10,6	191,4 ± 47,55	0,107 8,4	155,9 ± 88,97	0,084 7,06	113,7 ± 56,22	0,07 5,90	289,2 ± 99,04	0,129 8,02						
PROTEIN ÜBERSTAND	65,5 ± 25,4	0,048	85,7 ± 21,3	0,051 13,4	100,5 ± 13,8	0,059 9,8	90,2 ± 34,1	0,048 8,2	97,2 ± 40,3	0,057 6,5	94,7 ± 43,0	0,04 9,0						

Tab.: 3 Enzym-, Protein-, DNS- und RNS-Gehalt des Pankreas bei Hunger
 Maßeinheiten: DNS, RNS; μg/gFr; E/μgDNS Protein: mg/gFr; E/μgDNS = mg/μgDNS

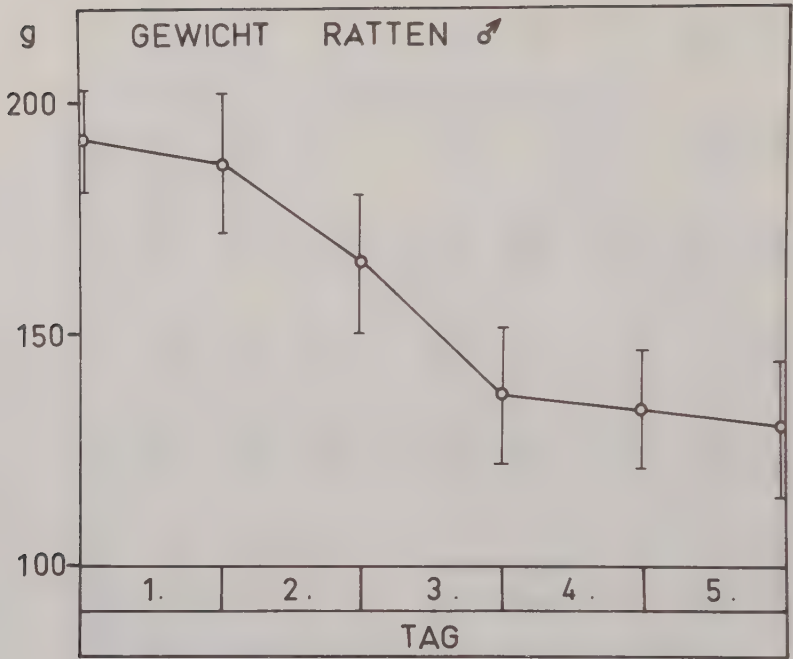


Abb.7: Das Verhalten des Körpergewichtes der Versuchstiere bei Hunger

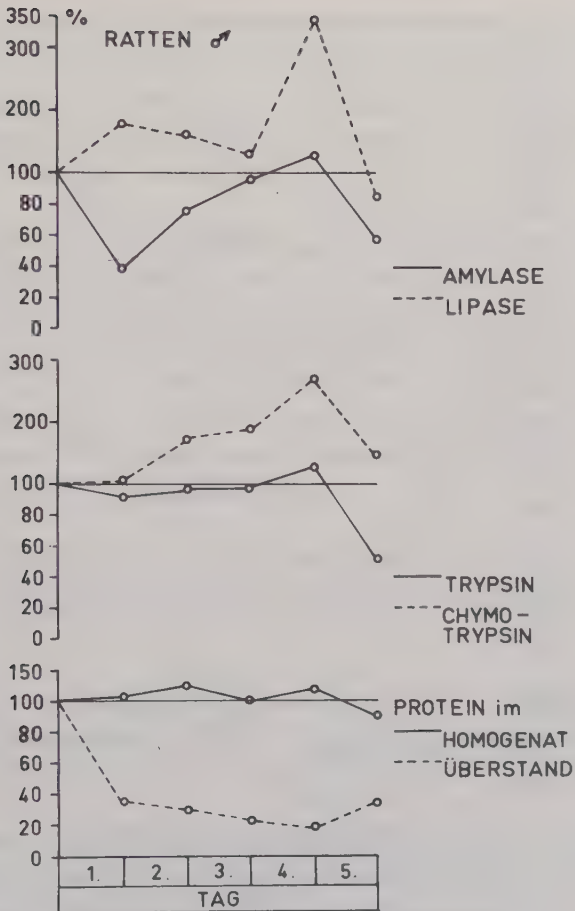


Abb.8: Enzym- und Proteingehalt des Rattenpankreas bei Hunger

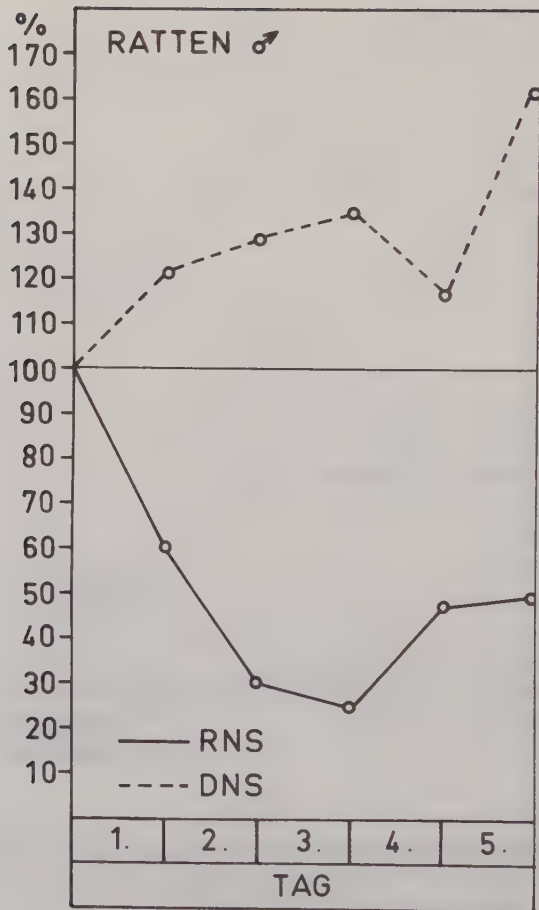


Abb.9: DNS- und RNS-Konzentrationen des Rattenpankreas bei Hunger

Literatur

1. Arnesjö, B., and H.Filipek-Wender: Intracellular distribution of lipolytic enzymes in the rat pancreas. Acta Physiol. Scand. 74: 616, (1968).
2. Arnesjö, B., and A.Grubb: Intracellular distribution of lipase in comparison to trypsinogen, amylase and immediately measurable trypsin inhibitor(s) in the rat pancreas. Acta Physiol. Scand. 75: 139, (1969).
3. Babkin, B.P.: Secretory mechanism of digestive glands. 2nd ed. New York: Hoeber Medical division of Harper u. Brothers 1950.
4. Baxter, S.G.: Parallel concentration of enzymes in pancreatic secretion. Amer. J. dig. Dis. 2: 108, (1935).
5. Ben Abdeljlil, A. et P.Desnuelle: "Sur L'adaptation des enzymes exocrines du pancréas à la composition du régime" Biochim. Biophys. Acta 81: 136, (1964).
6. Becker, V.: Sekretionsstudien am Pankreas. In: Abhandlungen norm. und pathol. Anatomie. Ed.: W. Bargmann, W.Doerr. Georg-Thieme-Verlag, (1957).
7. Bernfeld, P.: Alpha-Amylases, In: Colowick, C.O., Kaplan, N.O. Methods in enzymology, Vol.1: 149, (1955) New York.
8. Bode, Ch., H. Goebell und E. Stähler: "Zur Eliminierung von Trübungsfehlern bei der Eiweißbestimmung mit der Biuretmethode". Z.klin. Chem. und Biochem. 6: 418, (1968).
9. Brolin, S.E. and C.Berne: "The enzymatic activities of the initial glycolytic steps in pancreatic islets and acini". Metabolism 16: 1024, (1967).

10. Bucko, A. and Z. Kopec: "Adaption of enzymes activity of the rat pancreas on altered food intake." Nutr. Dieta 10: 276, (1968).
11. Bucko, A., Kopec, Z., Babala, J.: Effect of starvation on the function and morphology of rat pancreas. Nutr. Dieta 10: 266, (1968).
12. Burton, K.: A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleic acid. Biochem. J. 62: 315, (1956).
13. Burton, P., Evans, D.G., Harper, A.A., Howat, H.T., Oleesky, S., Scott, J.E., Varley: A test of pancreatic function in man based on the analysis of duodenal contents after administration of secretin and pancreozymin. Gut 1: 111, (1960).
14. Christophe, J.: "Effect of protein malnutrition upon the liver and the pancreas of the young rat". Bull. De L'Acad. Royale De Med. De Belg. 8: 273, (1968).
15. Christophe, J., A. Vandermeers, M.H. Khayat et J. Rathe: "Turnover of five hydrolases in the pancreas of normal rats and rats in protein malnutrition". III. Sympos. European Pancreatic Club, Prag (1968).
16. Desnuelle, P., Reboud, J.P. and Ben Abdeljlil, A.: Influence of the composition of the diet on the enzymecontent of rat pancreas. In: Ciba Symposium: The exocrine pancreas (J.A.Churchill Ltd., London) (1962).
17. Dreiling, D.A.: "Chron. rezidivierende Pankreatitis" Panel-Diskussion, 2.Weltkongress für Gastroenterologie 4: 46, (1962).

18. Goebell, H., Bode, Ch.: Befunde mit einem standardisierten Sekretin-Pankreozymin-Test bei Normalpersonen und Patienten mit chronischer Pankreatitis. In Vorbereitung.
19. Goebell, H.: Zum Sekretionsverhalten des normalen und geschädigten Pankreas. Habilitationsschrift, Marburg, (1969).
20. Grossmann, M.J., H.Greengard and A.C. Ivy: "The effect of dietary composition on pancreatic enzymes". Am. J. Physiol. 138: 676, (1942).
21. Guth, P.H., S.A. Komarov, H.Shay and C.Z. Style: "Relationship between protein, nitrogen, proteolytic, amylolytic and lipolytic enzymes in canine pancreatic juice obtained under various conditions of stimulation". Am. J. Physiol. 187: 207, (1956).
22. Herman, L. and P.J.Fitzgerald: Degenerative changes in pancr. acinar cells caused by DL-ethionine. J.Cell. Biol. 12: 277, (1962).
23. Hermann, L. and P.J. Fitzgerald: Restitution of pancreatic acinar cells following ethionine, J.Cell. Biol. 12: 297, (1962).
24. Hirsch, G.C.: Konstruktion und adaptive Umkonstruktion in den Zellen des exocrinen Pankreas, Wiss. Beiblatt zur Materia Medica, Nordmark, Nr. 49, (1964).
25. Hirsch, G.C.: Der Arbeitszyklus im Pankreas und die Entstehung der Eiweiße.Versuch eines synthetischen Bildes nach der Elektronen-Mikroskopie und Biochemie. Naturwissenschaften 45: 349, (1958).

26. Hokin, L.E.: The synthesis and secretion of amylase by pigeon pancreas in vitro. *Biochem. J.* 48: 320, (1951).
27. Hokin, L.E.: Isolation of the zymogen granules of dog pancreas and a study of their properties. *Biochem. Biophys. Acta* 18: 379, (1955).
28. Hummel, B.C.: A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Canad. J. Biochem. Physiol.* 37: 1393, (1955).
29. Junqueira, L.C.U. and G.C.Hirsch, H.A. Rothschild: Glycine-C¹⁴ uptake by the proteins of the rat pancreatic juice. *Biochem. J.* 61: 257, (1955).
30. Lagerlöf, H.O.: Pancreatic function and pancreatic disease. *Acta med. scand. Suppl.* 128: 1, (1942).
31. Lazarus, S.S. and B.W.Volk: Electron microscopic and histochemical studies on the effect of protein deficiency and semistarvation on the rabbit pancreas. *Bull. NY. Acad.* 42: 512, (1966).
32. Lemire, S., Iber, F.: Pancreatic secretion in rats with protein malnutrition. *John Hopkins, med. J.* 120: 21, (1967).
33. Lyman, R.L., Thenen, Sh., Tucker, R.: Effect on the rat pancreas of feeding dl-ethionine, with and without adenosine triphosphate, for 1 to 10 days. *Canad. J. Biochem.* 44: 1345, (1966).
34. Magee, D.F. and T.T.White: "Effect of alternation in dietary protein levels on pancreatic enzymes in rats." *Am. J. Physiol.* 193: 1:121, (1958).
35. Marchis-Mouren, G., Sarda, L., Desnuelle, P.: Purification of dog pancreatic lipase. *Arch. Biochem.* 83: 309, (1959).

36. Nadler, N.J.: Calculation of the turnover times of proteins in each region of the acinar cells in the pancreas. J. cell. Biol. 16: 24, (1963).
37. Nelp, W.B., J.G.Banwell and T.R.Hendrix: "Pancreatic function and the viscosity of pancreatic juice before and during Cortisone administration." Bull. John Hopkin Hosp. 109: 292, (1961).
38. Paradisi, F. and F. Cavazutti: "Exocrine pancreas and dietary lesions." Gastroenterologia 103: 1, (1965).
39. Paradisi, F., Cavazutti, F.: Pancreas e digiuno. Effeti della rialimentatione Boll. soc. Ital. biol speriment. 15, 20: 1246, (1964).
40. Pavlov, I.P.: Prednásky o cinnost: trávicich zláž (Lectures about the function of digesting glands). Sebrané spisy II/2: (collected works II/2), CsZN, Praha.
41. Rick, W.: Zur Pathologie der Enzymsekretion des Pankreas. Acta gastroent. belg. 28: 389, (1965).
42. Sarles, H.: Pastor, J., Pauli, A., Barthelmey, M.: Determination of pancreatic function. Gastroenterologia 99: 279, (1963).
43. Schön, H.: Colorimetrische Bestimmungen der Amylase in Duodenalsaft. In: Die intraduodenale Enzymbestimmung als direkte Pankreasfunktionsprüfung. Europäisches Pankreassymposium, Erlangen (1963), Schattauer Verlag, Stuttgart.
44. Schneider, W.C.: Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. In: Kaplan, N.O., Colowick, C.O., Methods in enzymology. Vol. 3: 680, (1957).

45. Sesso, A. and R.Migliorini: "Nucleic acid content and amylase activity in the pancreas of the rat following adrenalectomy and Cortisone administration". *Acta Physiol. Lat. Americ.* 9: 5, (1959).
46. Sesso, A. and V.Valeri: "Effects of hypophysectomy on the amylase and trypsin activable protease activities in the pancreatic Juice acinar cell of the rat". *Pflüger Arch. Ges. Physiol.* 274: 345, (1962).
47. Sesso, A., V.Valeri and L.C.U.Junqueira: "Action of Thyroxine and Cortisone on secretory activity of the pancreatic acinar cell of the hypophysectomized rat". *Pflüger Arch. Ges. Physiol.* 277: 473, (1963).
48. Snook, J.T.: "Effect of diet, adrenalectomy, diabetes, and actinomycin D on exocrine pancreas". *Am. J. Physiol.* 215: 1329, (1968).
49. Schwert, G.W., Takanaka, Y.: Spectrophotometric determination of trypsin and chymotrypsin. *Biochim. Biophys. Acta* 16: 570, (1955).
50. Tiskornia, O.M., J. Hansky, H.D. Janowitz and D.A. Dreiling: "The adrenal cortex and external pancreatic secretion in the dog". *J.Mt.Sinai Hosp.* 32: 551, (1965).
51. M.C.Vandermeers-Piret, J.Camus, J.Rathé, A. Vandermeers and J. Christophe: "Distribution of hydrolases in the rat pancreas: some properties of the zymogen granules. *Amer. J. of Physiol.* Vol. 220, No. 4: 1037, (1971).

53. Veghelyi, P.V. and T.T. Kemeny: "Protein metabolism and pancreatic function." In: The exocrine pancreas. Ciba Symposium A. u.J. Churchill, p. 329, (1962).
54. Warshawsky, H., Leblond, C.P., Droz, B.: Synthesis and migration of the proteins in the exocrine pancreas. J. Cell. Biol. 16: 1, (1963).
55. Weinland, E.: Über die Laktase des Pankreas. Z.Biol. 20: 607, (1899); 32: (1900).
56. Weisblum, B., L. Herman and P.J. Fitzgerald: "Changes in pancreatic acinar cells during protein deprivation". J.Cell. Biol. 12: 313 (1962).
57. Zieve, L., Silvis, St.E., Mulford, B., Blackwood, W.D.: "Secretion of pancreatic enzymes. I. Response to secretin and pankrocymin. Amer. J. dig. Dis. 11, 671, (1966).

L E B E N S L A U F

Am 12. Mai 1943 wurde ich, Eberhard Müller-Helms, als 2. Sohn des Zahnarztes Dr.med.dent. Reinhard Müller-Helms und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Althaus in Berlin geboren. Im gleichen Jahr siedelten meine Eltern mit uns zwei Jungen nach Wetter, Kreis Marburg/Lahn, um. Seit 1949 wohnten wir in Frankfurt/Main. Ostern 1949 wurde ich dort eingeschult. 1954 bestand ich die Aufnahmeprüfung für das Gymnasium. 1963 legte ich am Gymnasium Waldmichelbach (Odenwald) die Reifeprüfung ab. Danach verpflichtete ich mich für zwei Jahre zur Bundeswehr.

1965 begann ich an der Philipps-Universität Marburg/Lahn das Medizinstudium. Die naturwissenschaftliche Vorprüfung bestand ich am 23.2.1967, und am 13.10.1969 legte ich dort die ärztliche Vorprüfung ab. Das medizinische Staatsexamen bestand ich am 13.12.1972.

Am 25.November 1971 heiratete ich meine Frau Heidrun, geborene Kreuder. Seit 1.Februar 1973 bin ich als Medizinalassistent am Diakoniekrankenhaus in Wehrda bei Marburg beschäftigt.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Ammon, Beckmann, Berendes, Bode, Bommer, Buchholz, Daume, Dimroth, Dölle, Exner, Ganz, Goebell, Hamelmann, Heuser, Hildebrandt, Hort, Jacob, Janke, Karlson, Knauff, Koranski, Linneweh, Mahr, Mann, Martini, Petry, Reim, Pots, Rodeck, Rohn, Schleyer, Seidel, Siegert, Schmitz-Moormann, v.Stosch, Straub, Strohmeyer, Walcher, Welge-Lüssen, Zilliken.

Anerkennung:

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr.med.H.Goebell für die Überlassung des Themas sowie den Rat und die Unterstützung, die er mir bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit angedeihen ließ.

Frau U.Wittkamp danke ich für die äußerst sorgfältige Ausführung der Zeichnungen.

Frau A.Happel und Frau U.Winkel danke ich für ihre tatkräftige und hilfreiche Unterstützung bei den technischen Arbeiten.

